

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

Année Universitaire 2024/2025.

Ecole Supérieure en Sciences Biologique d'Oran (ESSB d'Oran)



Département du Second Cycle

Polycopie Pédagogique

Matière :

Génétique microbienne

Niveau : première année

Option : Génie enzymatique

Spécialité : Biotechnologie

Filière : Sciences Biologiques

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Réalisé par :

Dr. LADLI Meriem

Matière enseignée pendant les Années Universitaires :

2024/2025

2023/2024

2022/2023

Préambule

Ce polycopié pédagogique présente les fondements génétiques et moléculaires de l'expression des gènes chez les micro-organismes, à travers l'étude des bactéries, des archées, des levures et des virus. Il constitue un support de cours destiné à accompagner l'étudiant dans sa compréhension des mécanismes complexes qui gouvernent l'organisation, la régulation et l'évolution des génomes microbiens.

Objectifs du polycopié

Ce document vise à :

- Fournir une connaissance approfondie de l'organisation structurale des génomes microbiens ;
- Expliquer les mécanismes de transcription, de traduction et de régulation de l'expression génique ;
- Illustrer les stratégies de transfert horizontal de gènes chez les bactéries ;
- Explorer la diversité génétique, la variabilité et l'évolution des populations virales
- Introduire les concepts de transcriptome, protéome et génétique mitochondriale chez les levures comme systèmes modèles.

Public visé et prérequis

Ce support est conçu pour les étudiants de première année du second cycle en Génie enzymatique. Il s'adresse à un public ayant déjà acquis un socle fondamental en :

- Microbiologie générale : diversité microbienne, structures cellulaires, cycles de vie ;
- Génétique : structure de l'ADN, expression des gènes, mutations ;
- Biochimie : structure et fonction des protéines, métabolisme de base.

Table des matières

Partie I : Les bactéries	8
Chapitre 1 : Le génome bactérien	17
1 Structure du génome bactérien	17
1.1 Le chromosome bactérien	17
1.2 Les éléments génétiques mobiles	25
1. L'ADN extra-chromosomique (les plasmides)	25
2. Les transposons	33
3. Les intégrons	37
1.3 Organisation des gènes procaryotes	44
2 Réplication du chromosome bactérien	46
3 Altérations et mécanismes de réparation du génome bactérien	49
1. Mutations spontanées	50
2. Mutations induites	50
Chapitre 2 : Transferts génétiques horizontaux	60
1.La transformation bactérienne	61
2.La transduction	67
2.La conjugaison bactérienne	71
4 . Carte génétique	73
Chapitre 3 : Biosynthèse des protéines	76
1 La transcription	76
1.1 Initiation	77
1.2 Élongation	78
1.3 Terminaison	79
2 Traduction chez la bactérie	80
2.1 Le ribosome bactérien et les acteurs de la traduction	81
1. Structure du ribosome bactérien	81
2. Les étapes du processus de traduction	81
3. Mécanismes de régulation de la traduction bactérienne	82
Chapitre 4 : Régulation de l'expression des gènes	83
1. L'opéron lactose	85
2. L'opéron tryptophane	87
3. Système modulateur d'expression : l'atténuation	88
4. Régulation par inversion de séquences d'ADN	88
Partie 2 : Les champignons (La levures comme système modèle)	93
1 Les levures	93
1.1 Généralités	93
1.2 Culture et nutrition de la levure	95
2 Le génome des levures	96
3 Transcriptome de la levure :	97

4	Le protéome des levures	100
5	Analyse des mutations biochimiques des tétrades	103
6	Complémentation et conversion génique chez la levure	105
7	Génétique des mitochondries chez la levure	105
Partie 3 : Les Archées		109
1	Les archées	109
1.1	Généralités	109
1.2	Diversité, écologie et évolution des archées	110
1.3	Génétique des archées	115
1.4	Les Archées d’Asgård	130
Partie 4 : Les virus		136
Chapitre 1 : Introduction à la virologie		136
Chapitre 2 : Virologie moléculaire		136
1.	Structure et composition des virions	136
3.	Le cycle d'infection d'une cellule par un virus	140
4.	Exemples de cycles viraux représentatifs (virus à ADN, virus à ARN, rétrovirus).....	141
4.	Vaccination et agents antiviraux	142
4.1.	Vaccination	142
5.	Manipulation et utilisation des virus	144
5.1.	Manipulation en laboratoire	144
5.2.	Utilisation en biotechnologie.....	144
6.	Agents non-conventionnels et prions	145
6.1.	Agents non-conventionnels	145
6.2.	Prions.....	145
Chapitre 3 : Variabilité génétique des virus		146
1.	Mécanismes de la variabilité génétique (mutations, recombinaisons, réassortiments)	146
2.	Dynamique de l'évolution des populations virales	148
3.	Facteurs d'évolution des populations virales	149
Chapitre 4 : Conséquences biologiques de l'évolution des populations virales		150
1.	Variation antigénique et échappement à la réponse vaccinale.....	150
2.	Résistance aux traitements antiviraux	151
5.	Adaptation à l'hôte, transmissions interspèces et émergence virale	151
6.	Variations de tropisme viral et pathogenèse	152
Chapitre 5 : Modélisation moléculaire des virus et relations structure-fonctions des protéines virales		154
1.	Structure des virus et des assemblages moléculaires viraux	154
2.	Évolution dynamique et relations fonctionnelles des structures des protéines virales	154
3.	Applications à la conception d'antiviraux et de vaccins viraux	154
Références bibliographiques		155

Liste des figures :

Figure 1 : Structure de la paroi bactérienne chez les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.	9
Figure 2 : Structure de la membrane plasmique bactérienne.	10
Figure 3 Capsule bactérienne observée au microscope électronique.	12
Figure 4 : Pili communs (fimbriae) chez les bactéries.	13
Figure 5 : Formation du pilus sexuel et transfert génétique chez les bactéries.	14
Figure 6 : Types de disposition des flagelles chez les bactéries. Illustration des arrangements flagellaires : monotriche, lophotriche et péritriche.	15
Figure 7 : Spore bactérienne - Schéma à gauche, observation au microscope électronique à droite.	16
Figure 8 : Microscopie électronique du glycocalyx bactérien.	17
Figure 9 : Structure primaire et secondaire de l'ADN bactérien.	19
Figure 10: Phylogénie des bactéries selon la structure de leur chromosome.	20
Figure 11: Visualisation du nucléoïde bactérien après coloration au Giemsa.	21
Figure 12: ADN bactérien surenroulé observé en microscopie.	23
Figure 13: Mécanismes de réplication des plasmides de type θ .	27
Figure 14: Réplication par cercle roulant des plasmides.	28
Figure 15: Structure d'un élément IS (Insertion Sequence)	34
Figure 16: Structure d'un transposon composite	34
Figure 17: Structure d'un intégron.	38
Figure 18: Origine de réplication ($oriC$) chez les bactéries.	47
Figure 19: Réplication de l'ADN chez les bactéries.	49
Figure 20: Représentation schématique de la réparation d'une DSB par NHEJ chez <i>Mycobacterium</i> .	58
Figure 21: Principaux modes de transfert horizontal de gènes chez les bactéries.	60
Figure 22: Transformation chez les bactéries Gram-positives.	62
Figure 23: Transformation chez les bactéries Gram-négatives.	63
Figure 24: Stabilisation et intégration de l'ADN simple brin (ADNsb) dans le cytoplasme bactérien.	64
Figure 25: Transduction bactérienne.	69
Figure 26: Structure de l'ARN polymérase bactérienne.	77
Figure 27: Étapes de l'initiation de la transcription bactérienne.	78
Figure 28: Cycle de la transcription bactérienne.	80
Figure 29: Structure de l'opéron lactose.	86
Figure 30: Structure de l'opéron tryptophane.	87
Figure 31: Structure d'une cellule de levure	94
Figure 32: Transcription chez la levure	98
Figure 33: Comparaison de la structure des membranes cellulaires chez les archées et les bactéries.	112
Figure 34: fourche de réplication archéenne selon Zatopek (Zatopek, Gardner, and Kelman 2018).	119
Figure 35: structure des ARN polymérases- ADN dépendantes à sous unités multiples.	123
Figure 36: Mécanisme de transcription chez les archées.	127
Figure 37: Mécanisme de la traduction chez les archées.	130
Figure 38: Capside hélicoïdale et capsidede virus cubique.	138
Figure 39: Le cycle d'infection d'une cellule par un virus.	141

Introduction générale

La compréhension des mécanismes d'expression des gènes chez les micro-organismes constitue un pilier fondamental de la microbiologie moléculaire et du génie enzymatique. Ces organismes modèles — bactéries, archées, levures et virus — offrent une diversité biologique et génétique remarquable qui permet d'explorer les grandes lois du vivant, tout en ouvrant la voie à de nombreuses applications biotechnologiques.

Ce polycopié propose une approche structurée et progressive de l'organisation, du fonctionnement et de la régulation des génomes microbiens, en mettant en évidence les spécificités propres à chaque groupe étudié. La première partie, consacrée aux bactéries, détaille la structure du génome bactérien, les éléments génétiques mobiles, les mécanismes de réplication et de réparation de l'ADN, ainsi que les processus de transcription, de traduction et de régulation de l'expression génique. Un accent particulier est mis sur les transferts génétiques horizontaux, qui constituent un levier majeur d'évolution chez ces micro-organismes.

La deuxième partie aborde les levures, micro-organismes eucaryotes simples, souvent utilisés comme modèles expérimentaux en génétique. Cette section permet d'introduire des notions plus avancées telles que le transcriptome, le protéome, la génétique mitochondriale ou encore l'analyse des mutations et des conversions géniques, contribuant à une compréhension plus fine de la régulation et de l'expression des gènes dans un contexte eucaryote.

La troisième partie s'intéresse aux archées, un groupe longtemps méconnu, mais aujourd'hui reconnu pour sa diversité métabolique et ses caractéristiques génétiques singulières. Cette section met en lumière les points communs et les différences entre archées, bactéries et eucaryotes, et soulève des questions sur l'évolution des systèmes d'expression génique.

Enfin, la quatrième partie est consacrée aux virus, entités à la frontière du vivant. Elle explore leur structure, leurs cycles infectieux, les interactions virus-hôte, ainsi que la dynamique évolutive des populations virales. Une attention particulière est portée sur les mécanismes de variabilité génétique, les conséquences biologiques de cette évolution et les implications en santé publique, notamment en termes de vaccination, d'émergence virale ou de résistance aux traitements.

À travers ces quatre grandes parties, ce cours vise à fournir à l'étudiant une vision intégrée et comparative des systèmes d'expression génétique chez les micro-organismes. Il permet de comprendre comment ces systèmes ont évolué, comment ils fonctionnent, et comment ils

peuvent être exploités à des fins scientifiques, médicales ou industrielles. Cette approche globale prépare les étudiants à l'analyse critique de données génétiques, à l'utilisation des outils de biologie moléculaire, et à la mise en œuvre de stratégies en génie enzymatique

Partie I : Les bactéries

Objectif :

Comprendre l'organisation, la réplication, la variabilité et la régulation du génome bactérien, ainsi que les mécanismes de transfert horizontal, afin de mieux appréhender la plasticité génétique et l'adaptation rapide des bactéries.

Introduction

Les bactéries, procaryotes unicellulaires de morphologie variable, présentent des caractéristiques uniques et une organisation interne complexe. Leur structure est essentielle pour leur survie, leur reproduction et leur interaction avec l'environnement. Ces microorganismes omniprésents se présentent sous diverses formes, toutes de type procaryote. Les dimensions des bactéries varient considérablement, allant de 0,2 μm pour des espèces comme *Chlamydia* à 250 μm de longueur pour certains spirochètes. Elles peuvent prendre différentes formes : cocci (sphériques), bacilles (allongées), spirilles et spirochètes, ainsi que des formes filamenteuses comme les Actinomycètes (Willey, Sherwood & Woollverton, 2018).

1. Morphologie et diversité des formes bactériennes

Les bactéries se distinguent par une grande diversité morphologique, incluant les formes suivantes :

- **Cocci** : formes sphériques, isolées, en chaînes ou en amas (par exemple, *Staphylococcus* et *Streptococcus*).
- **Bacilles** : formes allongées, isolées, en chaînes ou en amas (par exemple, *Escherichia coli* et *Salmonella*).
- **Spirilles** : formes spiralées (comme *Treponema*).
- **Actinomycètes** : formes filamenteuses, proches des moisissures.

Taille et groupements bactériens

- La taille des bactéries varie entre 0,2 μm (comme *Chlamydia*) et 250 μm (par exemple, les spirochètes).
- En moyenne, la taille des bactéries se situe entre 1 et 10 μm .

- Les bactéries peuvent se retrouver seules, en chaînes ou en amas, ces groupements étant caractéristiques de certaines espèces.

Éléments constants et inconstants de la structure bactérienne

Certaines structures sont présentes dans toutes les bactéries (éléments constants), tandis que d'autres sont facultatives, et ne se trouvent que dans certaines espèces (éléments inconstants).

3.1 Les éléments constants

1. Paroi cellulaire

La paroi cellulaire, une enveloppe rigide, est cruciale pour maintenir l'intégrité des cellules et les protéger contre les variations de pression osmotique. Les **Mollicutes** (comme *Mycoplasma*) en sont dépourvues. Le composant commun à toutes les parois bactériennes est le **peptidoglycane**, composé de glucides et de peptides. La structure de la paroi varie entre les bactéries **Gram-positives** (paroi épaisse) et **Gram-négatives** (paroi plus mince avec une membrane externe riche en lipopolysaccharides).

Fonctions de la paroi cellulaire :

- Protection contre les variations osmotiques et les agents lytiques.
- Maintien de la forme cellulaire et rôle dans la division cellulaire.
- Support pour l'identification bactérienne.

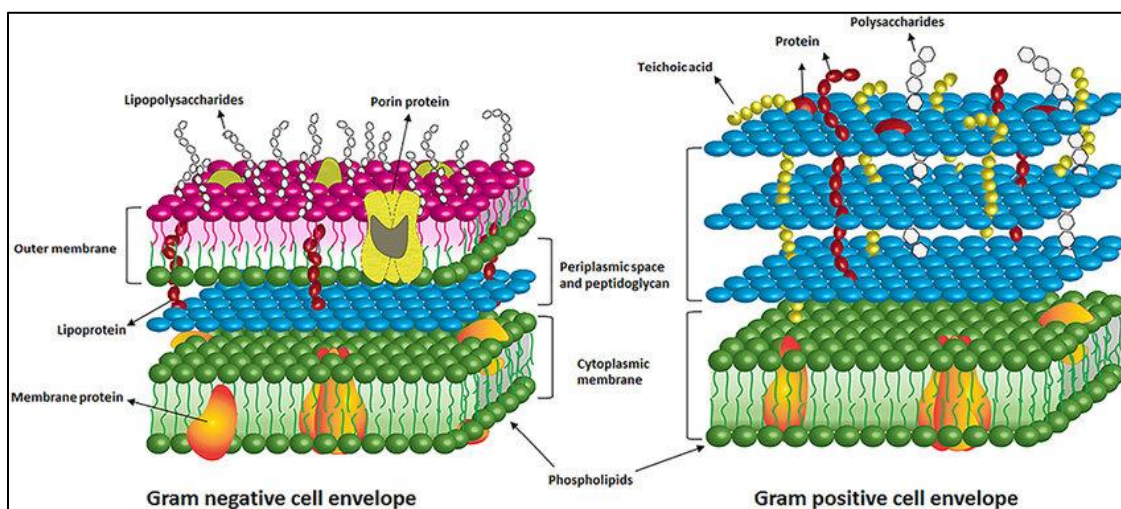


Figure 1 : Structure de la paroi bactérienne chez les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

Les bactéries à Gram positif présentent une paroi épaisse composée de peptidoglycane. Celles à Gram négatif possèdent une paroi plus fine, entourée d'une membrane externe contenant des lipopolysaccharides. (Li et al., 2023).

2 . Membrane plasmique

La membrane plasmique des bactéries, située à l'interface entre le cytoplasme et l'environnement extérieur, est composée d'une double couche de phospholipides et de protéines. Contrairement aux cellules eucaryotes, elle ne contient pas de stérols.

Fonctions de la membrane plasmique :

- Perméabilité sélective et transport des solubles.
- Rôle dans la respiration et la phosphorylation oxydative (pour les bactéries aérobies).
- Excrétion d'enzymes hydrolytiques.
- Ancrage des flagelles.
- Cible d'action de certains antibiotiques.

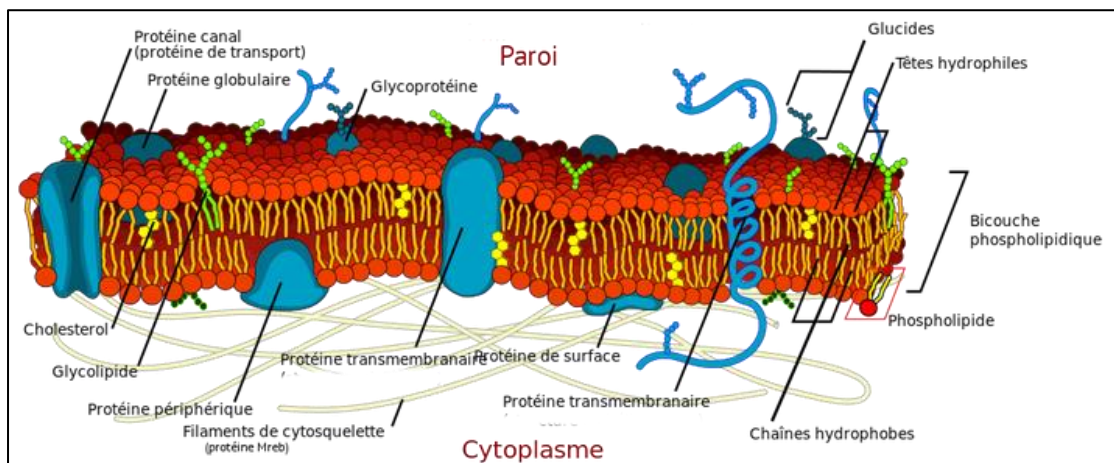


Figure 2 : Structure de la membrane plasmique bactérienne.

Membrane formée d'une bicouche phospholipidique, intégrant des protéines périphériques et intrinsèques. On y distingue également des transporteurs et des canaux. (Li et al., 2023).

Cytoplasme et Nucléoïde

Le cytoplasme est un gel aqueux contenant des ribosomes, des réserves de glucides, de lipides et de minéraux, ainsi que des organites spécialisés tels que les chromatophores et les vacuoles à gaz. Le **nucléoïde**, région du cytoplasme, contient le matériel génétique sous forme de

chromosome circulaire (ADN double brin). Des **plasmides**, éléments génétiques extrachromosomiques, peuvent également être présents, offrant un avantage adaptatif.

Fonctions du nucléoïde :

- Transmission et réplication de l'information génétique.
- Synthèse des protéines et expression génétique.

3.2 Structures inconstantes

1. Capsule

La capsule est la structure la plus externe des bactéries et est généralement composée de polysaccharides, bien que certaines puissent contenir des protéines. Elle peut être appelée couche muqueuse lorsqu'elle est diffuse, fine et facilement destructible, ou capsule lorsque celle-ci est bien organisée, compacte et plus résistante.

La capsule joue plusieurs rôles essentiels pour la bactérie :

- **Protection** : Elle protège la bactérie contre la phagocytose par les cellules immunitaires et aide à éviter la détection par l'hôte.
- **Adhésion** : Elle facilite l'adhésion des bactéries à des surfaces solides ou biologiques, ce qui est crucial pour la formation de biofilms et la colonisation des tissus.
- **Virulence** : La présence d'une capsule bien structurée est un facteur majeur dans la virulence de nombreuses bactéries pathogènes, contribuant à leur capacité à échapper aux défenses immunitaires de l'hôte.

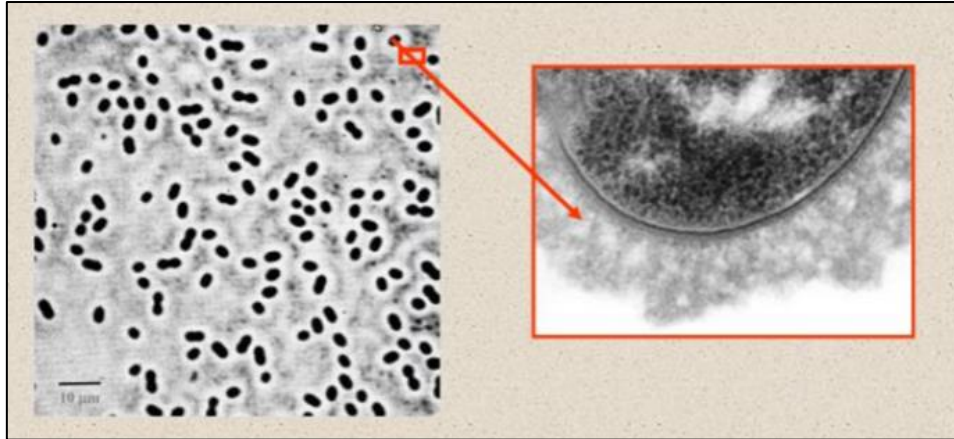


Figure 3 Capsule bactérienne observée au microscope électronique.

Structure externe visqueuse et bien définie, composée principalement de polysaccharides, parfois de polypeptides. Elle entoure la paroi cellulaire et joue un rôle clé dans la protection de la bactérie contre la phagocytose, l'adhésion aux surfaces et la formation de biofilm. (Nirmala et al., 2024).

2. Pili ou Fimbriae

Les pili (ou fimbriae) sont des appendices filamenteux présents à la surface de nombreuses bactéries, principalement à Gram négatif (mais aussi, plus rarement, chez certaines bactéries à Gram positif). Ces structures sont plus courtes et plus fines que les flagelles et sont parfois comparées à des "poils" en raison de leur aspect.

On distingue deux types de pili :

- Pili communs :
 - Ce sont des structures protéiques filamenteuses d'environ 2 à 3 μm de long, disposées régulièrement sur la surface de la bactérie.
 - Leur rôle principal est l'adhésion à des surfaces biologiques ou inertes, facilitant ainsi l'attachement aux cellules hôtes ou la formation de biofilms.

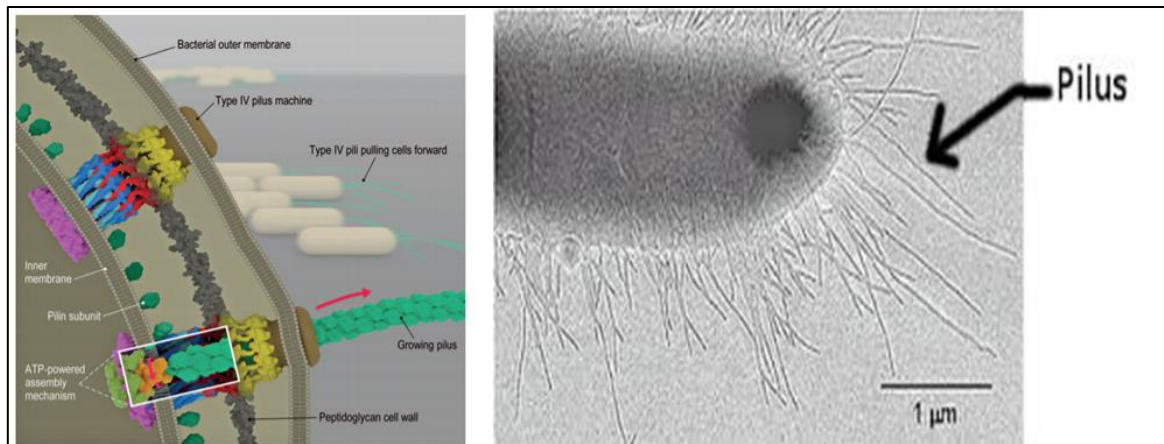


Figure 4 : Pili communs (fimbriae) chez les bactéries.

Fines appendices protéiques, courts et nombreux, s'étendant à la surface de la cellule. Ils permettent l'adhésion aux surfaces, aux tissus ou entre bactéries, mais ne sont pas impliqués dans la conjugaison. Adaptée de (Chang et al., 2016).

- Pili sexuels :
 - Ces pili sont plus longs que les pili communs, mais leur nombre est plus restreint (généralement entre 1 et 4 pili par bactérie).
 - Ils sont codés par des plasmides portant le facteur F et jouent un rôle clé lors de la conjugaison bactérienne, un mécanisme de transfert de matériel génétique entre bactéries. Les pili sexuels permettent l'attachement des bactéries entre elles et facilitent le transfert des plasmides d'une cellule à l'autre

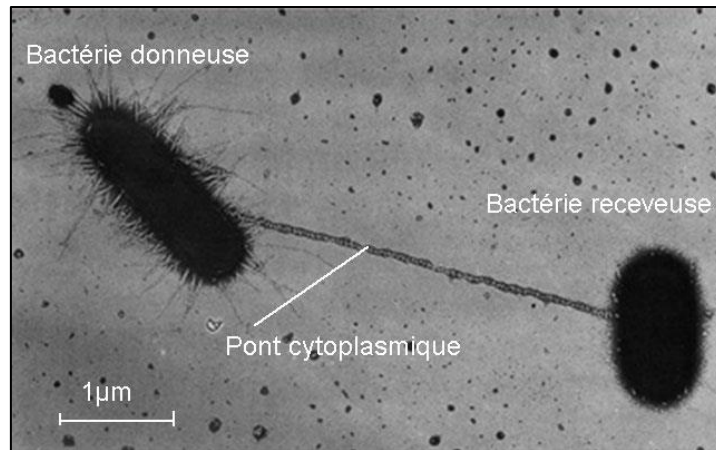


Figure 5 : Formation du pilus sexuel et transfert génétique chez les bactéries.

Le pilus sexuel est une structure fine et longue produite par la bactérie donneuse (généralement F⁺). Il établit un contact avec la bactérie receveuse (F⁻) pour former un pont de conjugaison. Ce pilus permet le transfert de matériel génétique, sous forme de plasmide, de la bactérie donneuse vers la bactérie receveuse, facilitant ainsi l'échange génétique horizontal. (Carranza et al., 2021).

Cils et flagelles

- **Les flagelles**

Les flagelles sont des structures inconstantes chez les bactéries, constituées entièrement de protéines appelées flagellines. Ces appendices filamenteux mesurent entre 6 et 15 μm de long et ont un diamètre de 12 à 30 nm. Les flagelles sont des organes de locomotion, permettant aux bactéries de se déplacer dans leur environnement.

Les **flagellines** sont antigéniques : elles induisent la production d'anticorps, ce qui permet de les mettre en évidence lors de certains sérodiagnostics, comme celui de la fièvre typhoïde. Ces protéines varient d'une espèce bactérienne à l'autre, ce qui permet de différencier les souches bactériennes.

Les flagelles sont ancrés dans le cytoplasme de la bactérie par une structure complexe, et leur mouvement permet à la cellule de se déplacer.

En fonction de leur disposition, on distingue trois types de bactéries :

- **Monotriches** : un seul flagelle polaire.
- **Lophotriches** : une touffe de flagelles polaires.
- **Péritriches** : des flagelles répartis sur toute la surface de la cellule.

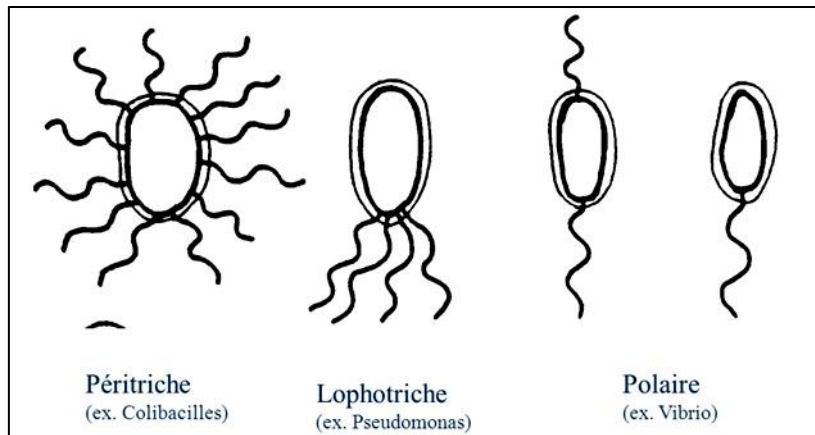


Figure 6 : Types de disposition des flagelles chez les bactéries.
Illustration des arrangements flagellaires : monotriche, lophotriche et péritriche.

- **Les Cils(fimbriae)**

Les cils, ou fimbriae, sont des structures fines et courtes présentes à la surface des bactéries. Ils mesurent généralement entre 0,5 et 5 μm de long et ont un diamètre d'environ 3 à 10 nm. Contrairement aux flagelles, les cils ne sont pas impliqués dans la locomotion mais jouent un rôle essentiel dans l'adhésion de la bactérie aux surfaces, aux cellules hôtes ou entre bactéries, contribuant ainsi à la formation de biofilms et à l'infection bactérienne.

Les fimbriae sont constitués de protéines appelées pilines et sont souvent nombreux sur une même cellule bactérienne. Ces structures sont aussi importantes pour les interactions spécifiques avec les cellules hôtes, facilitant par exemple la colonisation des muqueuses. Les cils peuvent être impliqués dans la conjugaison bactérienne (transfert de matériel génétique) lorsqu'ils se connectent avec d'autres bactéries, mais leur rôle principal reste l'adhésion

Les spores

Les **spores** sont des structures de résistance formées par certaines bactéries en réponse à des conditions environnementales défavorables. Elles sont dotées de plusieurs couches protectrices, ce qui permet aux bactéries de survivre dans des environnements extrêmes, comme la chaleur ou la déshydratation.

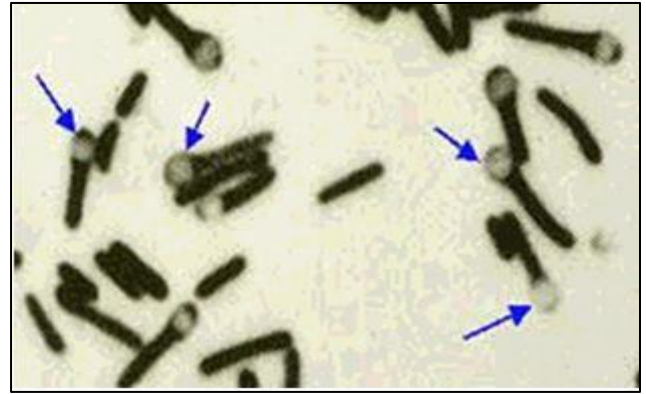
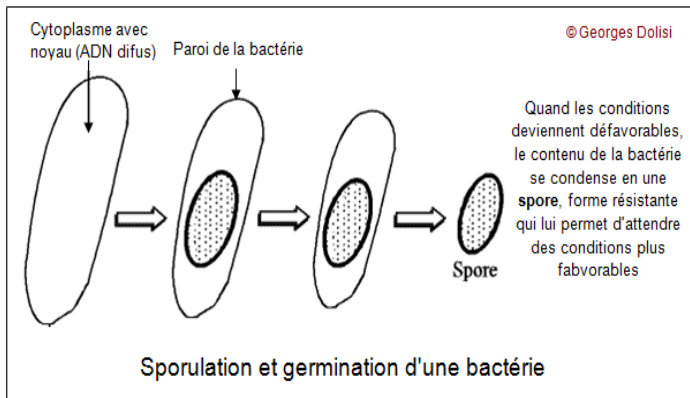


Figure 7 : Spore bactérienne - Schéma à gauche, observation au microscope électronique à droite.

Le schéma illustre le processus de sporulation d'une bactérie, où la cellule végétative se transforme en spore. À droite, l'image au microscope électronique révèle la spore dans sa forme dormante, entourée de ses couches protectrices, illustrant sa capacité à résister aux conditions environnementales extrêmes avant de germer. (Carranza et al., 2021).

Glycocalyx

Une couche externe composée principalement de polysaccharides, mais elle peut également contenir des protéines et des lipides. Cette structure joue un rôle clé dans plusieurs fonctions biologiques essentielles, notamment la protection contre les attaques immunitaires de l'hôte, comme la phagocytose, et dans la formation de biofilms. Le glycocalyx bactérien se présente sous deux formes : la capsule et le slime. La capsule est une couche épaisse, bien définie et organisée qui entoure la paroi cellulaire de certaines bactéries. Elle protège la bactérie contre la déshydratation et les conditions environnementales hostiles tout en facilitant son adhésion aux surfaces et à d'autres cellules, ce qui peut être essentiel pour la colonisation. Le slime, quant à lui, est une couche moins structurée et plus lâche, souvent produite par les bactéries qui forment des biofilms. Le glycocalyx permet également aux bactéries de se fixer sur des surfaces biologiques ou non biologiques, contribuant ainsi à leur capacité à persister dans des environnements tels que les dispositifs médicaux, les tissus hôtes ou les surfaces naturelles. Cette structure joue un rôle important dans la virulence des bactéries pathogènes, en facilitant leur adhésion aux cellules de l'hôte et en les protégeant contre les réponses immunitaires.

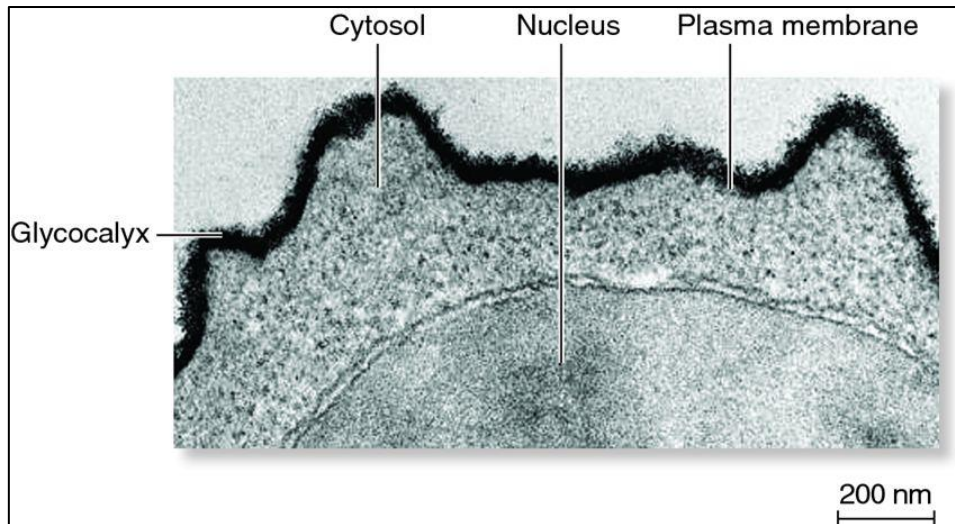


Figure 8 : Microscopie électronique du glycocalyx bactérien.

L'image montre la présence d'une capsule épaisse autour de la cellule bactérienne, constituée principalement de polysaccharides. Cette structure protège la bactérie contre les agressions de l'hôte et favorise son adhésion aux surfaces, contribuant ainsi à la formation de biofilms et à la virulence des bactéries. (Costerton et al., 1987).

Chapitre 1 : Le génome bactérien

Les bactéries sont des organismes ubiquitaires microscopiques, et la taille de leur génome varie considérablement, allant de moins de 200 kb à plus de 13 Mb (Rocha, 2008). L'ADN bactérien se présente sous deux formes principales : l'ADN chromosomique et l'ADN extra-chromosomique (porté par des plasmides).

1 Structure du génome bactérien

1.1 Le chromosome bactérien

Organisation générale

Chez la majorité des bactéries, l'ADN génomique est constitué d'une molécule d'ADN double brin circulaire. Toutefois, certaines espèces présentent des chromosomes linéaires, ou des combinaisons de chromosomes et de plasmides linéaires et circulaires. L'ADN est localisé dans

une région spécifique du cytoplasme appelée nucléoïde, qui n'est pas entourée d'une membrane.

Structure primaire

La structure primaire de l'ADN correspond à la séquence linéaire de nucléotides. Chaque nucléotide est formé :

- d'un groupement phosphate,
- d'un sucre à cinq carbones (désoxyribose),
- d'une base azotée : adénine (A), thymine (T), cytosine (C) ou guanine (G).

Les nucléotides sont liés entre eux par des liaisons phosphodiesters, formant un long brin polynucléotidique.

Structure secondaire : la double hélice

Deux brins complémentaires s'associent par liaisons hydrogène entre les bases (A-T, C-G) pour former la double hélice d'ADN, décrite par Watson et Crick. Cette hélice est antiparallèle (les deux brins ont des orientations opposées) et enroulée de manière régulière, constituant la structure secondaire de l'ADN.

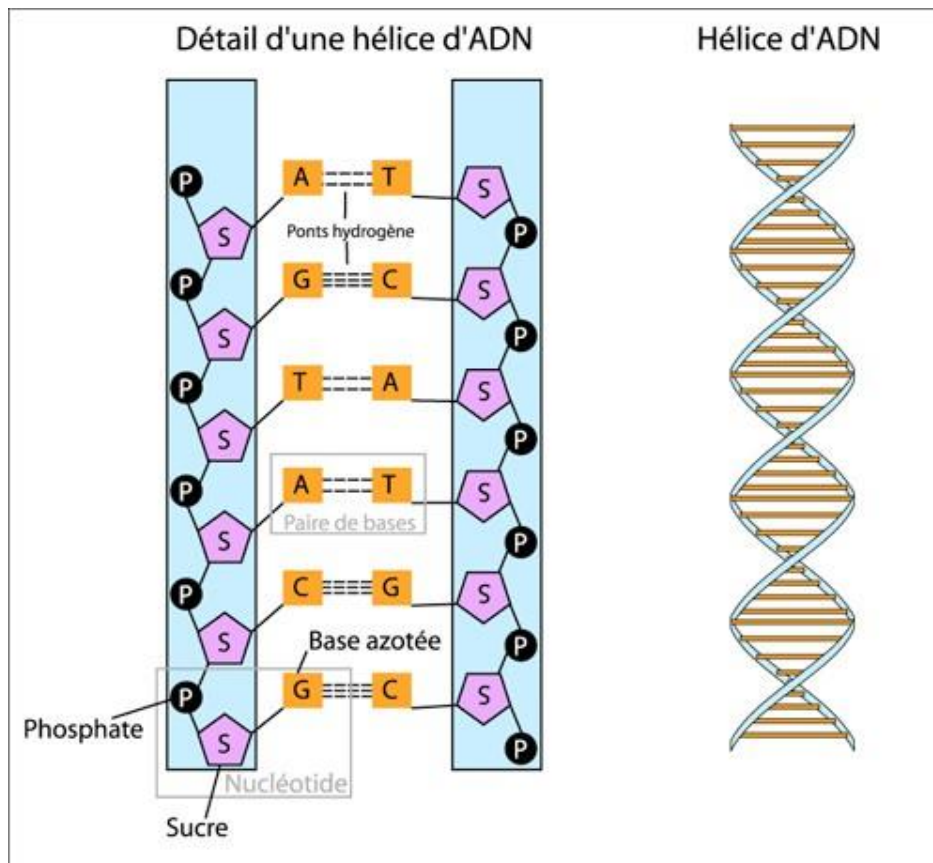


Figure 9 : Structure primaire et secondaire de l'ADN bactérien.

À gauche : représentation linéaire de la structure primaire de l'ADN, montrant la séquence de nucléotides liés par des liaisons phosphodiester.

À droite : représentation de la structure secondaire en double hélice formée par l'appariement complémentaire des bases (A-T et C-G) entre deux brins antiparallèles.

Formes de l'ADN Bactérien

ADN Chromosomique

Chez la plupart des bactéries, l'ADN est organisé en un seul chromosome circulaire. Cependant, environ 10 % des bactéries dont le génome a été séquencé possèdent plusieurs chromosomes. Ces bactéries proviennent de différents taxons, tels que les Chloroflexi, Deinococcus, Spirochaetes, et diverses Proteobacteria (alpha, beta, gamma), ce qui suggère que l'acquisition de chromosomes supplémentaires a eu lieu de manière indépendante à plusieurs reprises au cours de l'évolution (Casjens, 1998).

La plupart de ces chromosomes supplémentaires sont circulaires, mais il existe des exceptions. Par exemple, chez *Agrobacterium*, l'un des chromosomes est linéaire. De même, chez les genres *Borrelia* et *Streptomyces*, les chromosomes sont également linéaires (Feijoo-Siota et al., 2017; Val et al., 2014).

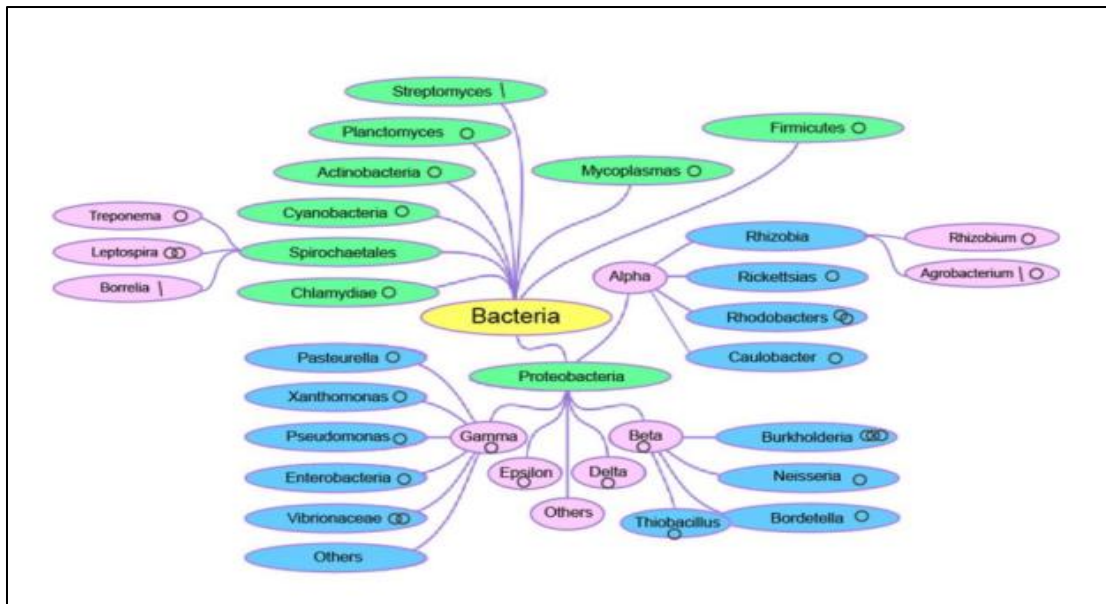


Figure 10: Phylogénie des bactéries selon la structure de leur chromosome.

L'arbre phylogénétique représente diverses espèces bactériennes regroupées en fonction de la forme de leur chromosome : chromosome circulaire (ADN en anneau) indiqué par un symbole rond, et chromosome linéaire (ADN en ligne droite) représenté par une ligne. Cette diversité structurelle reflète une adaptation évolutive à différents environnements et stratégies de réplication. (Feijoo-Siota et al., 2017).

Taille du Génome Bactérien

Les chromosomes bactériens sont considérablement plus petits que ceux des eucaryotes. Par exemple, le chromosome d'*Escherichia coli*, qui mesure environ 4 Mb, est dix fois plus petit que le chromosome humain le plus petit.

L'absence de noyau dans les cellules bactériennes a conduit à la supposition que l'ADN était libre dans le cytoplasme. Cependant, des découvertes récentes ont révélé que, bien que l'ADN bactérien ne soit pas contenu dans un noyau délimité, il est néanmoins organisé dans une région spécifique de la cellule, appelée le nucléoïde.

Le Nucléoïde : Organisation et Structure

- **Découverte du Nucléoïde**

L'idée que l'ADN bactérien est organisé dans une structure distincte du reste du cytoplasme a été avancée pour la première fois en 1937 par Piekarski, grâce à des colorations spécifiques comme le réactif de Feulgen et la coloration Giemsa. Ces techniques ont permis de visualiser cette région contenant l'ADN, qui a été nommée nucléoïde

- **Structure du Nucléoïde**

Le nucléoïde est une région du cytoplasme où le chromosome bactérien est fortement condensé et organisé. Cette structure est composée d'ADN et de diverses protéines associées, notamment les Nucleoid-Associated Proteins (NAPs), qui jouent un rôle crucial dans l'organisation et la dynamique de l'ADN (Kellenberger, Ryter, et Séchaud, 1958; Skoko et al., 2006). Ces protéines aident à maintenir l'ADN bactérien dans un état compact et à réguler des processus comme la réplication et la transcription.

Dynamique et Variation du Nucléoïde

La structure du nucléoïde n'est pas figée ; elle est dynamique et peut varier en fonction de plusieurs facteurs, tels que l'état physiologique de la cellule, le mode de croissance (végétatif ou sporulation), et les interactions de la cellule avec son environnement (symbiose, infection). Ces variations sont influencées par l'activité des organisateurs structuraux protéiques du chromosome et les processus biologiques actifs dans la cellule (Fisher et al., 2013; Wu, Swain, et al., 2019; Lioy, Junier, et Bocard, 2021). Par exemple, lors de la division cellulaire ou de l'activation de gènes spécifiques, des changements dans l'organisation du nucléoïde peuvent être observés.

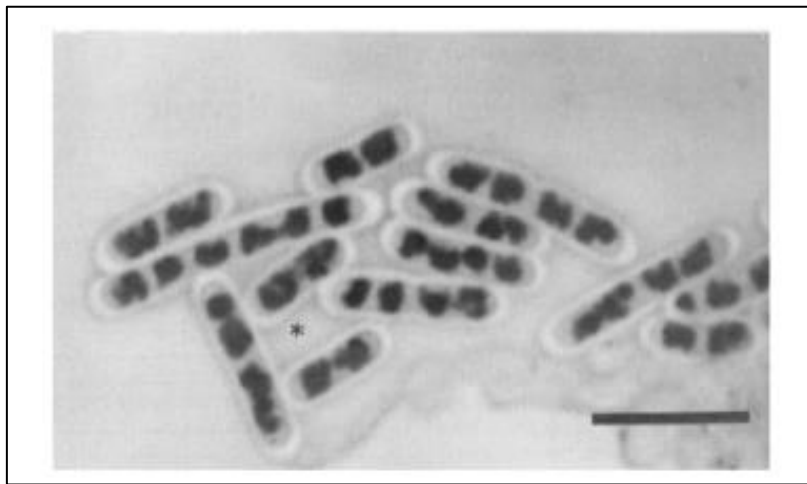


Figure 11: Visualisation du nucléoïde bactérien après coloration au Giemsa.

La coloration met en évidence la région nucléoïdienne (zone centrale plus dense et colorée), correspondant à l'ADN compacté, distinct du reste du cytoplasme bactérien. (Fisher et al., 2013).

Organisation du Chromosome Bactérien

L'organisation du chromosome bactérien a été étudiée à différents niveaux, de la compaction locale de l'ADN à l'organisation de grandes structures chromosomiques. Ces mécanismes de structuration sont cruciaux pour la réplication, la transcription et la segmentation de l'ADN au sein de la cellule.

Niveaux de Structuration du Chromosome

Surenroulement de l'ADN : Domaine Topologique

Le surenroulement négatif de l'ADN est un premier niveau important d'organisation du chromosome. Ce surenroulement génère des domaines topologiquement isolés d'environ 10 à 100 kb, qui sont essentiels pour la compaction du chromosome et la réparation des cassures double-brins d'ADN. Ces domaines aident à maintenir les extrémités cassées proches et facilitent ainsi la réparation. Ce surenroulement est régulé par les topoisomérases de types I et II, qui modifient la conformation de l'ADN en coupant et en recollant les brins pour ajuster la super-hélicité (Postow et al., 2004).

- Topoisomérase de type I : Coupe un seul brin d'ADN pour réguler la super-hélicité.
- Topoisomérase de type II (ex. la gyrase et la topoIV) : Coupe les deux brins d'ADN, permettant une modification plus marquée de la conformation de l'ADN.

Chromatine Bactérienne et Nucleoid-Associated Proteins (NAPs)

Un niveau de structuration plus complexe de l'ADN bactérien est assuré par les Nucleoid-Associated Proteins (NAPs). Ces protéines jouent un rôle majeur dans la compaction et la régulation du génome bactérien, et sont capables de générer des courbures, des torsions et des pontages dans la molécule d'ADN. Les NAPs interagissent à la fois de manière spécifique et non spécifique avec l'ADN pour former des structures condensées qui facilitent la régulation de processus tels que la transcription, la réplication et la recombinaison site-spécifique.

Parmi les NAPs les plus étudiées chez *E. coli*, on trouve :

- **Fis** (Factor for Inversion Stimulation)
- **H-NS** (Histone-like Nucleoid Structuring Protein)
- **IHF** (Integration Host Factor)
- **HU** (Histone-like protein)

- **StpA** (Suppressor of TyphoidPathogenicity)

Ces protéines sont également présentes chez d'autres bactéries, comme *P. aeruginosa*, où leur rôle dans l'organisation du chromosome reste à explorer davantage (Dame, 2005; Dillon and Dorman, 2010).

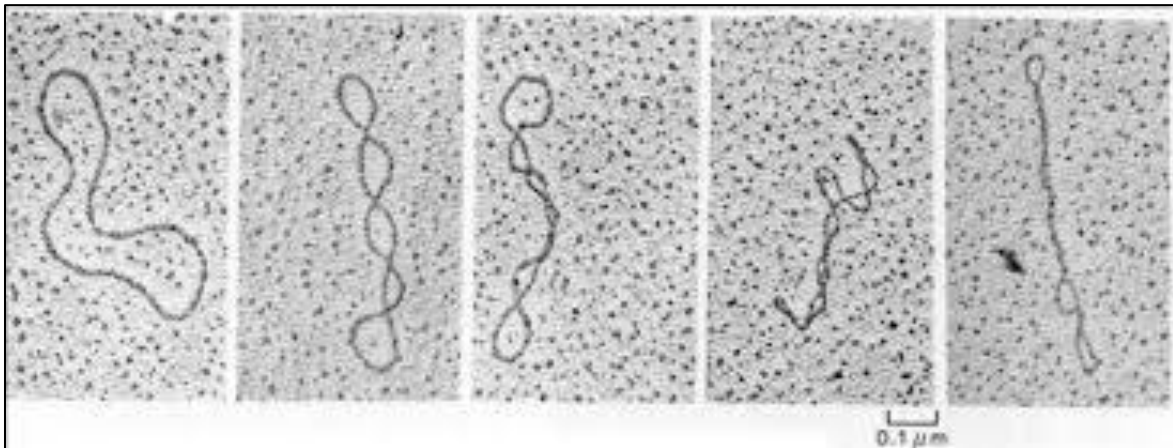


Figure 12: ADN bactérien surenroulé observé en microscopie.

L'ADN apparaît sous forme de structures denses et torsadées, témoignant de son surenroulement. Cette organisation facilite sa compaction dans le nucléoïde et joue un rôle clé dans la régulation de l'expression génique. (Wang, 1996).

Structure des Chromosomal Interaction Domains (CID)

Un niveau d'organisation plus élevé du chromosome est la formation des Chromosomal Interaction Domains (CID). Ces domaines d'interaction chromosomique sont des régions de 30 à 400 kb au sein desquelles les loci ont une plus grande probabilité d'interagir entre eux qu'avec les loci des domaines adjacents. Ces interactions sont cruciales pour l'organisation de l'ADN et la régulation de l'expression des gènes. Les CIDs sont souvent délimités par des groupes de gènes fortement exprimés (>2 kb), et la transcription de ces gènes joue un rôle dans la décompaction locale de l'ADN.

Chez *Caulobacter crescentus*, par exemple, 23 CIDs ont été identifiés, et des études ont montré que l'inhibition de la transcription ou le déplacement de gènes fortement exprimés modifient la distribution des CIDs sur le chromosome (Le et Laub, 2016).

Les CIDs présentent des analogies avec les TADs (Topologically Associating Domains) observés chez les eucaryotes, soulignant l'importance de cette structure dans la régulation génétique (Lioy, Junier, et Boccard, 2021).

Macrodomaines Chromosomiques chez *E. coli*

Chez *E. coli*, le chromosome est organisé en **quatre macrodomaines** (MD), chacun jouant un rôle spécifique dans la structuration et la régulation du chromosome. Ces macrodomaines sont :

- **Ori** : Domaine autour de l'origine de la réplication
- **Ter** : Domaine autour du point de terminaison de la réplication
- **Right et Left** : Domaines associés à des régions spécifiques du chromosome

Les macrodomaines sont définis par des interactions préférentielles entre les loci du même domaine, mais non entre les loci des domaines adjacents. Les macrodomaines Ori et Ter sont définis par des séquences spécifiques :

- **matS** : Séquence pour la structuration du MD Ter (régé par la protéine MatP)
- **maoS** : Séquence pour la structuration du MD Ori (régé par la protéine MaoP)

Les mécanismes exacts de structuration des macrodomaines Right et Left, ainsi que des régions non structurées (NSR et NSL), restent à approfondir (Valens et al., 2004; Espeli, Mercier, et Boccard, 2008; Thiel et al., 2012).

Protéines Interagissant avec l'ADN

Les Protéines de Type SMC : Condensines Bactériennes

Les protéines SMC (Structural Maintenance of Chromosomes) et leurs sous-unités associées sont cruciales pour l'organisation et la ségrégation du chromosome bactérien. Ces complexes protéiques sont présents dans presque toutes les bactéries séquencées et jouent un rôle fondamental dans la compaction et la segmentation de l'ADN. Trois grandes familles de condensines bactériennes ont été identifiées :

- SMC et ses sous-unités ScpA et ScpB
- MukB et ses sous-unités MukE et MukF
- MksB et ses sous-unités MksE et MksF

Les condensines bactériennes assurent la compaction de l'ADN et facilitent sa ségrégation lors de la division cellulaire. Les complexes MukBEF, comme ceux retrouvés chez *E. coli* et *Vibrio cholerae*, sont particulièrement importants pour ces processus. Le rôle de ces complexes varie d'une espèce bactérienne à l'autre, et leur inactivation peut avoir des effets distincts sur la ségrégation du chromosome (Niki et al., 1991; Rybenkov et al., 2014 ; Britton et al., 1998).

- **Fonction des NAPs dans la Compaction et la Transcription**

Les Nucleoid-Associated Proteins (NAPs) sont des petites protéines qui facilitent la compaction du chromosome en formant des ponts entre les loci du chromosome ou en induisant des courbures dans l'ADN. Leur rôle est essentiel dans la régulation de la transcription et la mise en place de structures chromosomiques fonctionnelles. Certaines NAPs, comme Fis, HU, et H-NS, sont également impliquées dans la régulation de processus biologiques vitaux, comme la réplication et la recombinaison (Dame, 2005 ; Dillon and Dorman, 2010).

1.2 Les éléments génétiques mobiles

1. L'ADN extra-chromosomique (les plasmides)

a. Organisation générale des plasmides

Les plasmides sont des éléments génétiques mobiles, généralement circulaires et double-brin, présents dans de nombreuses espèces bactériennes. Ils sont indépendants du chromosome bactérien et se répliquent de manière autonome grâce à des mécanismes spécifiques qui leur sont propres. Les plasmides portent leurs propres gènes de réplication, qui leur permettent de se multiplier dans la cellule hôte, et certains codent également des protéines de partitionnement pour s'assurer qu'ils soient correctement répartis entre les cellules filles lors de la division cellulaire.

Bien qu'ils soient indépendants, les plasmides recrutent souvent des éléments de la machinerie cellulaire de l'hôte, tels que des protéines de réplication (polymérase, hélicase, etc.), pour leur propre réplication. Un des aspects intéressants des plasmides est leur capacité à maintenir un nombre fixe de copies au sein d'une cellule bactérienne, généralement limité à quelques copies pour éviter une surcharge qui pourrait perturber les processus cellulaires. Ce nombre est régulé pour maintenir un équilibre entre la réplication du plasmide et celle du chromosome de la bactérie hôte.

La réplication des plasmides

Réplication des plasmides

Les plasmides, éléments génétiques mobiles présents dans de nombreuses bactéries, possèdent des mécanismes spécifiques pour leur réplication. Parmi ces mécanismes, deux sont particulièrement bien étudiés : la réplication de type θ et la réplication par cercle roulant. Chacune de ces stratégies présente des caractéristiques distinctes en termes de structure et de fonctionnement.

Réplication de type θ

La réplication de type θ est un mécanisme de réplication commun chez de nombreux plasmides circulaires. Elle est caractérisée par la formation d'une "fourche de réplication" en forme de θ (θ), d'où le nom de ce type de réplication. Ce processus est initié à une origine de réplication spécifique, où la molécule d'ADN plasmidique se sépare en deux brins. Un brin parental sert de matrice pour la synthèse d'un brin complémentaire par l'ADN polymérase.

Les étapes de la réplication de type θ se déroulent comme suit :

- **Initiation** : L'enzyme initiateur reconnaît une séquence spécifique de l'origine de réplication du plasmide, appelée "origine de réplication". Cette séquence est généralement riche en A-T, facilitant la séparation des brins. Une fois l'origine dépliée, une hélicase déroule les brins d'ADN.
- **Élongation** : L'ADN polymérase, en association avec d'autres protéines de réplication, synthétise un brin d'ADN complémentaire en utilisant un brin parental comme matrice.

- **Terminaison** : Une fois que l'ADN a été répliqué, des mécanismes spécifiques permettent de séparer les nouvelles molécules d'ADN, garantissant une répartition adéquate des plasmides dans les cellules filles lors de la division cellulaire.

Ce mécanisme est souvent utilisé par des plasmides possédant une origine de répllication forte, et il permet la production de multiples copies du plasmide dans une cellule, en maintenant un nombre relativement stable de copies plasmidiques.

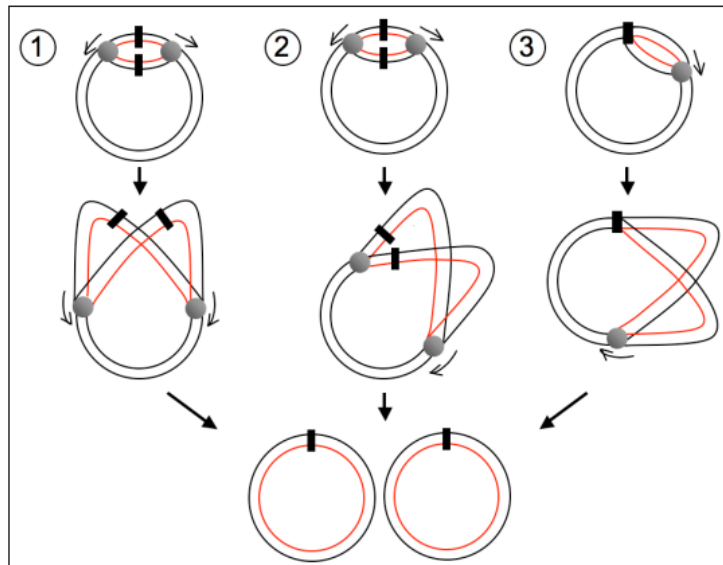


Figure 13: Mécanismes de répllication des plasmides de type thêta

1. Bidirectionnelle symétrique : Répllication dans deux directions opposées.
2. Bidirectionnelle asymétrique : Répllication dans deux directions avec des mécanismes différents.
3. Unidirectionnelle : Répllication dans une seule direction. (Lilly & Camps, 2015).

Répllication par cercle roulant

La répllication par cercle roulant, ou **rolling-circle replication** (RCR), est un mécanisme de répllication unidirectionnelle qui est observé chez de nombreux plasmides, en particulier ceux de type conjugatif ou de certains virus bactériens. Dans ce processus, un brin d'ADN est "découpé" et déplacé, permettant à l'autre brin de servir de modèle pour la synthèse d'une nouvelle molécule d'ADN. Ce mécanisme est particulièrement efficace pour les plasmides à faible nombre de copies, comme ceux qui se transmettent par conjugaison. (Khan, 2005)

Le processus de répllication par cercle roulant se déroule en plusieurs étapes :

- **Initiation** : La réplication commence par la coupure d'un des brins du plasmide à une origine spécifique. L'enzyme initiateur, souvent une endonucléase, génère une cassure simple brin qui permet à l'ADN polymérase de commencer la synthèse du nouveau brin.
- **Élongation** : L'ADN polymérase commence à synthétiser un nouveau brin en utilisant le brin coupé comme matrice. Le brin découpé se déroule progressivement en continu, permettant la synthèse du brin complémentaire.
- **Transmission** : À mesure que la réplication progresse, le brin qui a été découpé se déplace le long de la molécule circulaire, et une nouvelle molécule d'ADN est produite en continu.
- **Complétion** : Une fois que le brin est répliqué, la terminaison se produit lorsque le brin de réplication est complètement synthétisé. L'ADN circulaire produit est ensuite ségrégué dans la cellule, et il est intégré dans les cellules filles lors de la division.

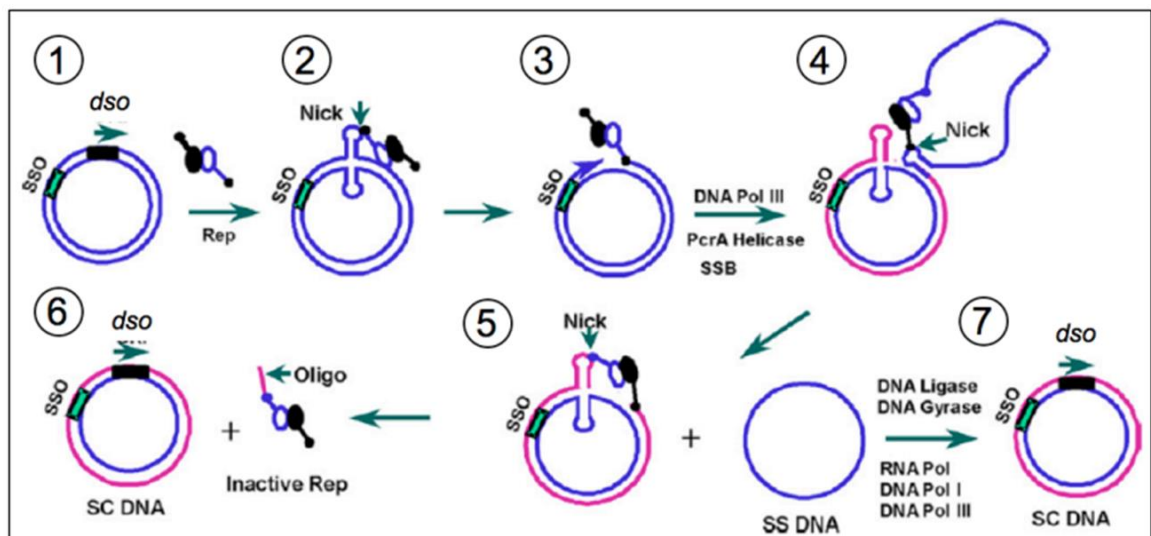


Figure 14: Réplication par cercle roulant des plasmides.

Schéma illustrant le mécanisme de réplication par cercle roulant, où un brin d'ADN du plasmide est déroulé et utilisé comme modèle pour la synthèse d'un brin complémentaire. Ce processus conduit à la formation de deux copies du plasmide, l'une complète et l'autre un brin intermédiaire qui sert de modèle pour une nouvelle synthèse. (Lilly & Camps, 2015).

La régulation de la réplication plasmidique

La régulation de la réplication des plasmides est influencée par plusieurs facteurs, notamment des systèmes internes qui ajustent la fréquence de réplication en fonction du nombre de copies présentes dans la cellule. Ces mécanismes incluent la régulation par les ARN antisens et les itérons.

Régulation par les ARN antisens

Les ARN antisens (ou "countertranscribedRNAs" - ctRNAs) jouent un rôle clé dans la régulation de la réplication des plasmides. Ces ARN sont complémentaires de certaines régions des transcrits nécessaires à l'initiation de la réplication, tels que l'amorce d'ARN (pRNA) et l'ARN messenger du gène rep. Ce système de régulation est particulièrement important pour les plasmides à grand nombre de copies, permettant de moduler leur réplication en fonction des besoins de la cellule.

Régulation par les itérons

Certains plasmides possèdent des séquences répétées, appelées itérons, situées dans leur origine de réplication. Ces itérons, généralement de l'ordre de 20 paires de bases, interagissent avec des protéines initiatrices de la réplication, telles que Rep, pour faciliter l'initiation du processus. Le modèle proposé pour la régulation de la réplication par itérons repose sur l'idée de "menottage" ou "handcuffing". Ce mécanisme empêche la réplication excessive en permettant aux protéines Rep fixées sur les itérons d'un plasmide de se lier à celles d'un autre plasmide voisin, créant ainsi un encombrement stérique qui bloque la réplication. Ce phénomène peut également se produire au sein d'un même plasmide, lorsque les itérons sont situés à des endroits différents sur la molécule d'ADN. (Pinto, Pappas, & Winans, 2012).

b. Classification et propriétés des plasmides

Les plasmides peuvent être classés selon différents critères, notamment leur mode de transfert, leur fonction ou encore leur régulation de réplication. Voici une classification détaillée en fonction de leur rôle et caractéristiques fonctionnelles : (Shintani, Sanchez, & Kimbara, 2015)

Plasmides conjugatifs

Les plasmides conjugatifs sont capables de se transférer d'une bactérie à une autre par conjugaison. Ils codent pour la machinerie de transfert génétique, y compris un pilus sexuel qui

assure le contact physique entre les bactéries et un système de sécrétion de type IV qui permet le passage de l'ADN plasmidique.

- **Exemples** : Le plasmide F d'*Escherichia coli*.
- **Rôle** : Leur capacité à transférer des gènes (par exemple, la résistance aux antibiotiques) contribue à leur propagation dans les populations bactériennes.

Plasmides mobilisables

Les plasmides mobilisables ne peuvent se transférer que si un plasmide conjugatif est présent dans la même cellule. Ils portent des **gènes de transfert partiels**, comme une **origine de transfert (oriT)**, mais dépendent du système conjugal d'un plasmide conjugatif pour le transfert.

- **Exemples** : Plasmides **pMB1**, **pUC**.
- **Rôle** : Bien qu'incapables de se transférer seuls, ils permettent la propagation de gènes spécifiques grâce à un plasmide conjuguant.

Plasmides non mobilisables

Ces plasmides ne possèdent pas les gènes nécessaires à la conjugaison et ne peuvent donc pas se transférer par conjugaison. Ils sont généralement transférés par d'autres mécanismes, comme la transformation (absorption d'ADN libre) ou parfois la transduction (transfert par virus bactériens).

- **Exemples** : Plasmides cryptiques, ou plasmides non conjugatifs.

Plasmides cryptiques

Les plasmides cryptiques sont des plasmides dont la fonction est inconnue. Ils ne codent ni pour des gènes de résistance, ni pour des facteurs de virulence, ni pour des éléments de métabolisme spécifiques. Ces plasmides sont souvent considérés comme des réservoirs génétiques sans rôle fonctionnel immédiat dans la cellule hôte.

- **Exemples** : Certains plasmides retrouvés dans des bactéries commensales, qui n'ont pas de fonction claire.

Plasmides de virulence

Les plasmides de virulence portent des gènes qui contribuent à la pathogénicité d'une bactérie. Ces gènes codent pour des facteurs de virulence, tels que des toxines, des adhésines, des systèmes de sécrétion de type III ou d'autres protéines facilitant l'infection.

- **Exemples** : Le plasmide **pV** de *Vibrio cholerae*, responsable de la production de cholératoxine.

Plasmides de résistance (plasmides R)

Les plasmides R sont des plasmides contenant des gènes qui confèrent une résistance aux antibiotiques ou à d'autres agents antimicrobiens. Ces plasmides sont souvent impliqués dans la diffusion de la résistance aux antibiotiques au sein des populations bactériennes.

- **Exemples** : Plasmides **R1**, **R100**, qui confèrent la résistance à des familles d'antibiotiques comme les pénicillines ou les tétracyclines.

Plasmides métaboliques

Les plasmides métaboliques codent pour des gènes impliqués dans la dégradation de substrats spécifiques, comme les hydrocarbures, les sucres complexes ou les composés toxiques. Ces plasmides permettent aux bactéries d'utiliser des substrats non conventionnels comme source de carbone ou d'énergie.

- **Exemples** : Plasmides permettant la dégradation de composés comme le **benzène** ou les **hydrocarbures**.
- **Rôle** : Ils sont souvent trouvés dans les bactéries capables de dégrader des polluants ou des substances toxiques, et jouent un rôle important dans les processus de **bioremédiation**.

Plasmides de cloisonnement (partitionnement)

Certains plasmides codent des protéines de partitionnement qui assurent une distribution égale des copies plasmidiques entre les cellules filles pendant la division cellulaire. Ces plasmides sont essentiels à la stabilité du plasmide au sein des populations bactériennes.

- **Exemples** : Plasmides **F** et **P1**.
- **Rôle** : Ces plasmides utilisent des mécanismes spécifiques pour garantir une transmission stable de leur matériel génétique.

Plasmides de transfert de gènes (transposons et intégrons)

Les plasmides peuvent également contenir des transposons ou des intégrons, qui sont des éléments génétiques mobiles permettant l'intégration de nouveaux gènes dans le génome de l'hôte. Ces gènes peuvent être des gènes de résistance aux antibiotiques ou des gènes de virulence.

- **Exemples :** Les plasmides contenant des **gènes de résistance à la méthicilline (bla)** et des **transposons Tn3**.

c. Propriétés des plasmides

Les plasmides possèdent plusieurs caractéristiques qui les rendent uniques et importants dans les cellules bactériennes. Ces propriétés incluent :

Autonomie de réplication :

Les plasmides se répliquent indépendamment du chromosome bactérien grâce à des mécanismes spécifiques et possèdent des origines de réplication qui leur sont propres.

Mobilité :

Certains plasmides, comme les conjugatifs, peuvent être transférés entre bactéries par conjugaison, permettant la propagation de gènes, comme ceux de résistance aux antibiotiques.

Capacité à contenir des gènes fonctionnels :

Les plasmides peuvent porter des gènes impliqués dans la virulence, la résistance aux antibiotiques, ou des gènes métaboliques permettant aux bactéries d'exploiter de nouveaux substrats. Ces gènes peuvent offrir un avantage adaptatif dans des environnements spécifiques.

Régulation fine :

Les plasmides possèdent des systèmes de régulation de leur réplication pour éviter une surproduction qui pourrait nuire à la cellule hôte. La régulation par ARN antisens ou par itérons permet de maintenir un nombre optimal de copies plasmidiques.

Particularité de leur ADN :

Les plasmides sont souvent circulaires et de petite taille, mais certains peuvent être linéaires ou posséder des caractéristiques particulières. Leur ADN est également plus sujet aux mutations, ce qui peut être un mécanisme évolutif rapide pour les bactéries.

Capacité à interagir avec d'autres éléments génétiques :

Les plasmides peuvent contenir des transposons, des intégrons et d'autres éléments génétiques mobiles qui facilitent l'intégration de nouveaux gènes dans le génome bactérien, contribuant ainsi à l'émergence de nouveaux traits fonctionnels, comme la résistance aux médicaments.

Les éléments génétiques mobiles

2. Les transposons

a. Structure générale des transposons

Les transposons, ou éléments transposables, sont des séquences d'ADN capables de se déplacer d'un locus à un autre au sein du génome. Ils sont présents chez tous les organismes vivants, mais jouent un rôle particulièrement important chez les bactéries, notamment dans la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques.

Un transposon typique comporte :

- Des séquences terminales répétées inversées (inverted repeats, IR), qui sont reconnues par l'enzyme transposase.
- Un gène codant une transposase, l'enzyme responsable du déplacement de l'élément.
- Parfois d'autres gènes, notamment des gènes de résistance ou des gènes métaboliques, insérés entre les IR.

b. Différents types de transposons

Chez les bactéries, on distingue plusieurs grandes familles de transposons :

- Les transposons simples ou IS (Insertion Sequences) : ils ne contiennent que les séquences nécessaires à la transposition (transposase et IR), sans gènes accessoires.
- Les transposons composites : formés de deux IS flanquant un ou plusieurs gènes accessoires (par exemple, gène de résistance).
- Les transposons unitaires ou non composites : contenant tous les éléments nécessaires à la transposition ainsi que des gènes accessoires, mais ne reposant pas sur deux IS.
- Les transposons conjugatifs : capables de se transférer d'une cellule à une autre par conjugaison, en plus de se transposer dans le génome.

- Les éléments génétiques intégratifs (ICE) : hybrides entre transposons et plasmides, pouvant s'intégrer dans le chromosome et se transférer horizontalement.

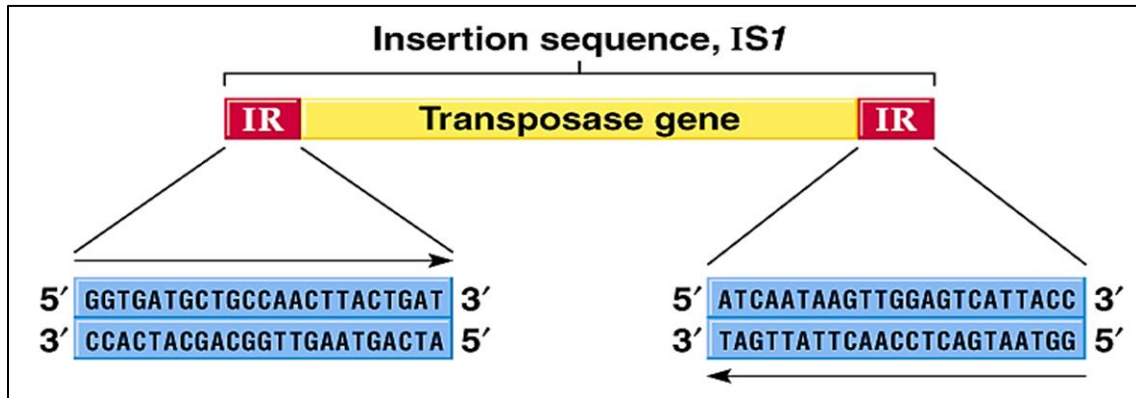


Figure 15: Structure d'un élément IS (Insertion Sequence)

L'élément IS est constitué d'un seul gène codant une transposase (*tnp*), encadré par deux séquences répétées inversées (IR) aux extrémités. Ces séquences sont reconnues par la transposase, qui catalyse l'excision et l'intégration de l'élément dans un nouveau site génomique. L'insertion entraîne souvent la duplication de quelques paires de bases du site cible. (Craig et al., 2015).

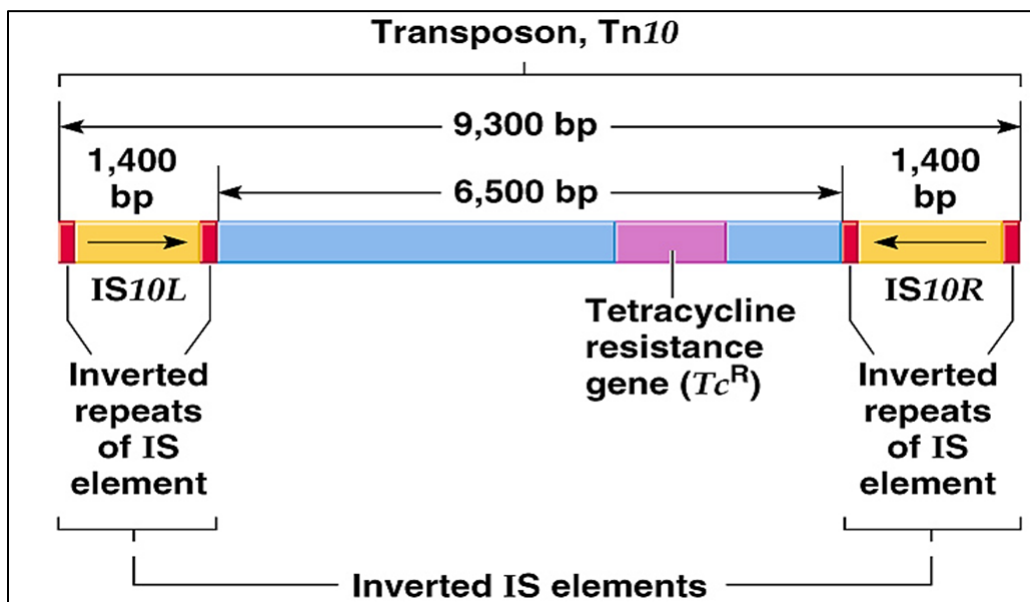


Figure 16: Structure d'un transposon composite

Le transposon composite est formé de deux éléments IS encadrant un ou plusieurs gènes accessoires, souvent liés à la résistance aux antibiotiques. Les deux IS, orientés dans le même ou en sens opposés, contiennent les séquences nécessaires à la transposition. Le complexe se déplace en bloc grâce à la transposase codée par l'un des IS. (Craig et al., 2015).

c. Mécanismes de transposition chez les bactéries

Les transposons utilisent différents mécanismes pour se déplacer dans le génome bactérien. Ces mécanismes impliquent tous une enzyme clé : la transposase, codée par le transposon lui-même. Elle reconnaît les séquences répétées inversées (IR) situées aux extrémités de l'élément transposable et catalyse l'excision et/ou l'intégration de l'ADN.

On distingue principalement deux grands types de mécanismes de transposition : la transposition répllicative et la transposition conservatrice. Il existe aussi des mécanismes dérivés utilisés par certains éléments complexes comme les éléments intégratifs conjugatifs (ICE) ou certains transposons à ADN de type Tn7.

1. Transposition avec répllication du transposon (mécanisme réplcatif)

Ce mécanisme, souvent appelé "**copier-coller**", permet la duplication du transposon au cours de sa transposition.

Étapes principales :

1. Reconnaissance des IR par la transposase.
2. Clivage simple brin aux extrémités du transposon sur l'ADN donneur.
3. Attaque du site cible sur l'ADN receveur par les extrémités clivées : les deux molécules (donneur et receveur) sont alors liées par des ponts d'ADN simple brin — c'est un intermédiaire de type "cointegrate".
4. Une répllication de l'ADN est initiée à partir des jonctions, ce qui permet de copier le transposon sur le site receveur.
5. Le cointegrate est ensuite résolu par une enzyme de résolvasse, également codée par le transposon (souvent présente dans Tn3 et ses dérivés).

Exemple : Le transposon Tn3, porteur d'un gène de résistance à l'ampicilline, suit ce mécanisme.

Conséquences :

- Le transposon est présent à deux endroits du génome : l'original et la copie.
- Ce mécanisme favorise la propagation rapide de gènes comme ceux de résistance aux antibiotiques.

2. Transposition conservatrice (mécanisme non répliatif)

Ce mécanisme est souvent qualifié de "couper-coller", car le transposon est excisé du site d'origine pour être intégré dans un nouveau site, sans duplication.

Étapes principales :

1. Reconnaissance des IR par la transposase.
2. Clivage double brin de part et d'autre du transposon, provoquant son excision complète du site donneur.
3. Intégration dans le site cible par clivage décalé de l'ADN receveur et ligation des extrémités du transposon.
4. La réparation du site d'insertion par les enzymes de la cellule hôte entraîne souvent la formation de petites répétitions directes flanquant le transposon (appelées duplications du site cible).

Exemples :

- **Transposons composites comme Tn5 et Tn10, souvent impliqués dans la résistance aux antibiotiques (kanamycine, tétracycline).**

Conséquences :

- Pas de duplication du transposon, mais perturbation possible du gène cible.
- La transposition conservatrice peut entraîner des cassures ou des recombinaisons si elle est mal régulée.

3. Conséquences de la transposition sur l'expression du génome bactérien

Les effets de la transposition vont bien au-delà du simple déplacement d'un fragment d'ADN. Ils peuvent profondément modifier l'expression du génome bactérien :

- **Activation/inactivation de gènes** : l'insertion d'un transposon peut perturber un gène codant ou un promoteur, provoquant une perte ou un gain de fonction.
- **Mobilisation de gènes** : les transposons peuvent transporter avec eux des gènes accessoires (gènes de résistance, facteurs de virulence), favorisant leur dissémination horizontale.
- **Recombinaisons aberrantes** : deux copies d'un même transposon dans un génome peuvent favoriser des événements de recombinaison illégitime (inversions, délétions, duplications).
- **Effet promoteur** : certains transposons possèdent leurs propres promoteurs ou séquences régulatrices qui peuvent influencer l'expression des gènes adjacents.

Les éléments génétiques mobiles

3. Les intégrons

a. Définition

Les intégrons sont des éléments génétiques capables de capturer, d'exprimer et de réarranger des gènes sous forme de cassettes génétiques. Ils ne sont pas mobiles par eux-mêmes, mais peuvent être associés à des éléments mobiles comme les plasmides ou les transposons, facilitant leur dissémination entre bactéries. Ils jouent un rôle clé dans l'adaptation bactérienne, en particulier dans la résistance aux antibiotiques.

b. Structure des Intégrons

Les intégrons sont constitués principalement de trois parties essentielles situées dans une région appelée segment conservé 5' (5'CS). Ces trois composants sont : un gène *intI* qui code pour une intégrase, un site de recombinaison *attI*, et un promoteur de cassettes *Pc* permettant l'expression des cassettes de gènes présentes dans la région variable de l'intégron. La région variable

contient les cassettes de gènes, qui sont elles-mêmes composées d'un cadre ouvert de lecture (ORF) et d'un site de recombinaison attC (Mazel, 2006).

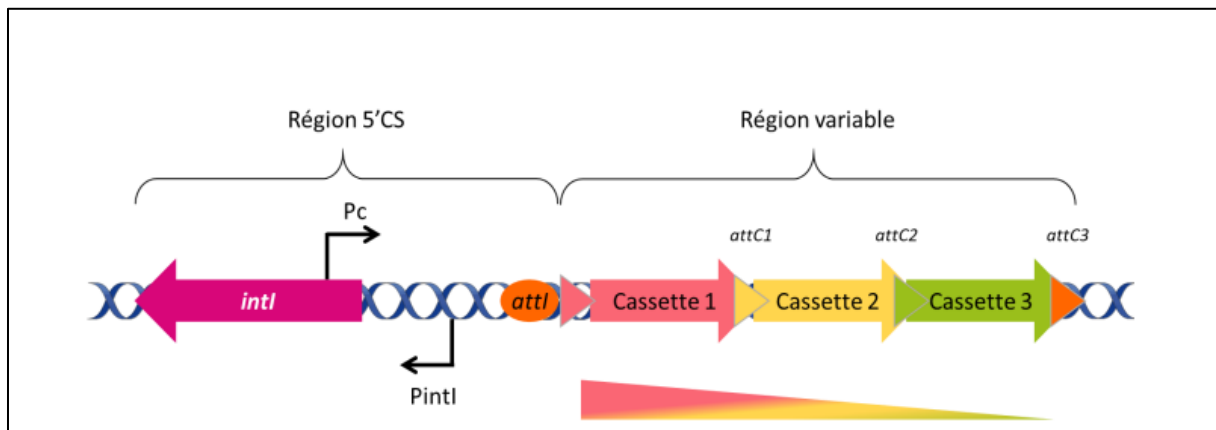


Figure 17: Structure d'un intégron.

Schéma représentant l'organisation génétique d'un intégron typique, comprenant un gène d'intégrase (*intI*), un site d'attachement spécifique (*attI*), un promoteur (Pc) assurant l'expression des cassettes géniques, et une ou plusieurs cassettes insérées contenant généralement un gène de résistance. (Mazel, 2006).

L'Intégrase IntI

L'intégrase IntI est la protéine centrale dans la structure d'un intégron, jouant un rôle clé dans l'insertion et l'excision des cassettes de gènes. Elle catalyse la recombinaison entre les sites attI et attC, permettant l'intégration des cassettes, et peut également exciser ces cassettes par recombinaison entre deux sites attC (Bouvier et al., 2005). L'intégrase IntI est une protéine tétramérique qui appartient à la famille des Y-recombinases, des enzymes spécifiques de site, et possède plusieurs caractéristiques structurales distinctives. Parmi ces caractéristiques, on retrouve un site actif constitué de cinq résidus conservés (RKHRH), un motif impliqué dans la reconnaissance et la recombinaison de l'ADN, ainsi que deux boîtes (box 1 et box 2) qui facilitent l'interaction de l'intégrase avec l'ADN cible (Grindley et al., 2006). De plus, des motifs supplémentaires tels que les Patch I, II et III interviennent dans la stabilisation de la structure secondaire de l'intégrase (Grindley et al., 2006).

Une caractéristique particulière des intégrases des intégrons est leur capacité à recombiner une molécule d'ADN double brin (attI) avec une molécule simple brin (attC), un processus unique comparé à la plupart des autres Y-recombinases (Bouvier et al., 2005). Une région supplémentaire, appelée domaine I2, présente dans les intégrases d'intégrons, semble jouer un rôle clé dans la reconnaissance et la recombinaison de l'ADN simple brin, ce qui distingue ces intégrases des autres membres de la famille des Y-recombinases (MacDonald et al., 2006;

Messier et Roy, 2001). Cette spécificité a permis de classer les intégrases en plusieurs groupes, et il existe aujourd'hui six classes d'intégrons de résistance identifiées, basées sur des similitudes dans la séquence des protéines d'intégrase (Jové, 2021).

Le Site de Recombinaison attI

Le site attI est une séquence spécifique reconnue par l'intégrase IntI pour l'intégration des cassettes de gènes. Il se compose d'au moins 63 paires de bases et varie légèrement selon la classe de l'intégron. Ce site comporte deux motifs importants : la boîte R et la boîte L, dont les séquences sont cruciales pour la recombinaison. La boîte R contient un motif conservé de 7 paires de bases GTTRRRY (R étant une purine et Y une pyrimidine), et la boîte L présente une séquence variable qui varie d'un intégron à l'autre (Collis et Hall, 2004). La recombinaison se produit spécifiquement au niveau du triplet 5'-GTT-3' qui se trouve dans la boîte R, où la coupure de l'ADN se fait entre le C et le premier A du brin complémentaire (Hall et al., 1991). En plus de ces éléments essentiels, les sites attI contiennent des séquences répétées directes (DR1 et DR2) qui augmentent l'efficacité de l'intégrase en favorisant son recrutement près du site de recombinaison (Gravel et al., 1998; Partridge et al., 2000).

Il existe une préférence de l'intégrase pour les sites attI spécifiques, mais certaines intégrases, comme IntI1, sont capables de recombiner avec des sites attI d'autres classes, bien que cela soit moins efficace (Collis et al., 2002b). Cette capacité d'adaptation montre la flexibilité de l'intégrase et de son système de recombinaison.

Le Promoteur des Cassettes (Pc)

Le promoteur Pc est responsable de l'expression des cassettes génétiques contenues dans l'intégron. Il se situe généralement dans la région 5'CS (conservée), soit dans la séquence codante du gène intI dans les intégrons de classe 1 et 3 (Collis et al., 2002a), soit dans le site attI dans les intégrons de classe 2 (Jové et al., 2017). Le promoteur Pc est crucial car il permet la transcription des gènes codés par les cassettes, même si ces dernières n'ont pas de promoteur propre. L'intensité de l'expression des cassettes dépend de leur position par rapport à ce promoteur : plus la cassette est proche, plus elle est exprimée à un niveau élevé (Collis et al., 2002a). Il existe cependant quelques exceptions, comme certains gènes, tels que *cmlA1*, *ere(A)* et *oxa10*, qui possèdent leur propre promoteur et n'ont pas besoin de l'action de Pc pour leur expression (Biskri et al., 2003; Naas et al., 2001). Les variations dans l'organisation du promoteur chez les différentes classes d'intégrons montrent une certaine flexibilité dans la

régulation de l'expression des cassettes. Par exemple, pour les intégrons de classe 1, le promoteur Pc est situé dans la séquence codante du gène *intI1*, tandis que dans les intégrons de classe 2, deux promoteurs distincts (Pc2A et Pc2B) sont localisés dans le site *attI2* (Jové et al., 2017). Chez les intégrons de classe 3, le promoteur Pc est situé dans la région codante du gène *intI3*, et plusieurs variants de ce promoteur ont été identifiés (Collis et al., 2002a; Simo Tchuinte et al., 2016).

La Partie Variable de l'Intégron : Le Réseau de Cassettes

c. Structure, mouvement et expression des Cassettes de Gènes

Les cassettes de gènes sont des éléments génétiques essentiels qui composent la partie variable d'un intégron. Chaque cassette est constituée d'un cadre ouvert de lecture (ORF) et d'un site de recombinaison spécifique *attC*, reconnu par l'intégrase pour permettre leur intégration dans l'intégron (Recchia et Hall, 1995). Ces cassettes jouent un rôle fondamental dans la diversité génétique des intégrons et sont capables de se déplacer ou de se réarranger au sein du génome, contribuant ainsi à leur mobilité (Escudero et al., 2015).

Les cassettes sont généralement de petite taille, variant entre 500 et 1000 paires de bases, et peuvent exister sous deux formes principales : circularisées et libres (non répliquatives), ou intégrées sous forme linéaire double-brin dans la structure de l'intégron (Escudero et al., 2015). Le nombre de cassettes présentes dans un intégron est variable, et cela peut dépendre des conditions sélectives et du type d'intégron. Par exemple, les intégrons de classe 1 peuvent contenir jusqu'à 10 cassettes dans leur réseau, comme observé dans certaines séquences décrites dans GenBank (KC170993). Toutefois, des intégrons sans cassettes ont également été rapportés, ce qui est relativement fréquent (Bissonnette et Roy, 1992; Stalder et al., 2014).

Il est à noter que le nombre de cassettes au sein d'un intégron peut influencer son coût biologique, en particulier dans le cas des intégrons de résistance. Une étude récente a démontré que l'augmentation du nombre de cassettes dans un réseau entraîne une augmentation significative de ce coût (Lacotte et al., 2017). Ce coût peut être dû à l'expression de certains gènes de résistance, qui consomment de l'énergie pour leur production, ce qui peut affecter la croissance et la survie des bactéries.

Les cassettes de résistance codent principalement des gènes permettant aux bactéries de développer une résistance aux antibiotiques. En juin 2021, on dénombrait 174 cassettes de résistance identifiées, conférant une protection contre diverses familles d'antibiotiques, incluant

les β -lactamines, les aminosides, la streptothricine, le triméthoprim, le chloramphénicol, les macrolides, et les quinolones, entre autres (Moura et al., 2009; Partridge et al., 2009). En plus de ces gènes de résistance, des cassettes codant pour des protéines à fonction inconnue ont également été recensées, et certains gènes comme *qac*, impliqués dans la résistance aux ammoniums quaternaires, sont courants dans les intégrons de résistance.

Ces cassettes forment ce que l'on appelle le réseau de cassettes, un ensemble de gènes qui peuvent être modifiés, intégrés ou excisés sous l'action de l'intégrase, selon les besoins de la bactérie face aux pressions sélectives. Les réseaux de cassettes permettent ainsi une grande flexibilité génétique et un potentiel adaptatif pour les bactéries, notamment en ce qui concerne la résistance aux antibiotiques.

Classification des intégrons

Ils se présentent sous différentes formes et se divisent en deux grandes catégories : les intégrons mobiles et les intégrons sédentaires chromosomiques. En plus de ces catégories, les intégrons sont classés selon les types d'intégrases qu'ils possèdent, donnant ainsi naissance à plusieurs classes d'intégrons.

Les Intégrons de Résistance (IR) ou Intégrons Mobiles

Les intégrons de résistance sont des éléments génétiques mobiles qui jouent un rôle majeur dans la diffusion des résistances aux antibiotiques entre bactéries. Ils sont généralement portés par des plasmides ou des transposons, ce qui leur permet de se déplacer et de se transmettre horizontalement entre différentes cellules bactériennes. Ce processus de transfert horizontal des gènes permet une dissémination rapide de la résistance.

Classification des Intégrons Mobiles (IR) :

Les intégrons de résistance peuvent être classés en trois classes principales, selon les gènes d'intégrase qu'ils portent :

Classe 1 :

Gène d'intégrase : *intI1*.

Caractéristiques : La classe 1 est la plus courante et la plus étudiée. Elle est fréquemment associée à des plasmides conjugatifs, ce qui permet une transmission rapide entre différentes bactéries. Les intégrons de classe 1 sont responsables de l'acquisition et de la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques, notamment aux bêta-lactamines.

Rôle : Ces intégrons sont largement impliqués dans la propagation de la résistance aux antibiotiques dans les populations bactériennes.

Classe 2 :

Gène d'intégrase : intI2.

Caractéristiques : Moins fréquents que ceux de la classe 1, les intégrons de classe 2 sont souvent associés à des transposons. Ces derniers peuvent être portés par des plasmides et sont également capables de transmettre des gènes de résistance.

Rôle : Bien que moins courants, ces intégrons contribuent aussi à la propagation de la résistance aux antibiotiques, mais dans une moindre mesure par rapport à ceux de la classe 1.

Classe 3 :

Gène d'intégrase : intI3.

Caractéristiques : Les intégrons de classe 3 sont rares et sont principalement retrouvés dans certains environnements bactériens spécifiques. Comme les autres classes, ils contiennent des cassettes génétiques, mais leur rôle dans la propagation des résistances est moins étudié.

Rôle : Ils ne sont pas aussi impliqués dans la transmission rapide des gènes de résistance comparé aux classes 1 et 2.

Les Intégrons Sédentaires Chromosomiques (ISC)

Les intégrons sédentaires chromosomiques (ISC), autrefois appelés super-intégrons (SI), sont des intégrons qui se trouvent intégrés dans le chromosome bactérien.

Contrairement aux intégrons mobiles, ces intégrons ne sont pas associés à des éléments génétiques mobiles tels que les plasmides ou les transposons, et restent fixés dans le chromosome de la bactérie.

Ils sont donc non mobiles et ne participent pas directement à la propagation horizontale des gènes.

Structure des ISC :

Les ISC peuvent contenir un nombre beaucoup plus élevé de cassettes génétiques (souvent plus de 200). Ces cassettes peuvent coder pour des protéines ayant des fonctions inconnues, mais certaines peuvent aussi contenir des gènes de résistance ou des gènes de virulence.

Rôle :

Les ISC servent principalement de réservoirs génétiques, permettant aux bactéries de s'adapter à divers stress environnementaux (changement de température, présence de toxines, etc.). Les gènes qu'ils contiennent peuvent aussi être impliqués dans la pathogénicité des bactéries, leur permettant de survivre et de se développer dans des conditions hostiles.

Origine des intégrons

Les intégrons ont été décrits pour la première fois dans les années 1980, lorsqu'on a identifié des structures génétiques inhabituelles responsables de l'expression de gènes de résistance aux antibiotiques, notamment dans les plasmides de bactéries pathogènes (Stokes & Hall, 1989). Leur rôle est alors resté longtemps mal compris, jusqu'à ce que leur mécanisme de capture de gènes soit progressivement élucidé.

Sur le plan évolutif, il est désormais admis que les intégrons ne sont pas des éléments génétiquement récents, mais plutôt des structures ancestrales ayant émergé bien avant l'ère des antibiotiques (Mazel, 2006). Ils seraient apparus chez des bactéries environnementales, notamment des espèces marines comme *Vibrio spp.*, où ils auraient initialement joué un rôle dans l'adaptation à des conditions variables, en intégrant divers gènes adaptatifs (Gillings, 2014). Ces formes anciennes sont appelées intégrons sédentaires chromosomiques (ISC).

Avec l'essor de l'utilisation massive des antibiotiques au XXe siècle, certains intégrons ont été capturés par des éléments génétiques mobiles, tels que les transposons (notamment Tn21 pour la classe 1) et les plasmides. Cette association leur a permis de se propager rapidement entre bactéries pathogènes humaines, animales et environnementales. Ces intégrons mobiles, aujourd'hui omniprésents chez les entérobactéries multirésistantes, sont appelés intégrons résistants (Cambray et al., 2010).

La forte conservation du gène *intI*, retrouvé dans des centaines d'espèces, suggère une origine monophylétique de ces structures. Les différentes classes d'intégrons (classes 1, 2, 3...) seraient donc issues de la diversification d'un ancêtre commun, porté à l'origine dans le chromosome d'une bactérie ancestrale (Mazel, 2006 ; Gillings, 2014).

1.3 Organisation des gènes procaryotes

Chez les procaryotes, l'organisation des gènes est généralement compacte et optimisée pour une expression rapide et efficace. Contrairement aux eucaryotes, les gènes procaryotes sont souvent regroupés en unités fonctionnelles appelées opérons. Un opéron regroupe plusieurs gènes codant pour des protéines impliquées dans une même voie métabolique ou fonctionnelle, permettant ainsi une régulation coordonnée de leur expression.

Caractéristiques principales :

Gènes codants adjacents : Les gènes au sein d'un opéron sont alignés les uns à la suite des autres sur le chromosome, souvent sans introns, et sont transcrits ensemble en un seul ARN messager polycistronique.

Promoteur unique : Un seul promoteur contrôle la transcription de l'ensemble des gènes de l'opéron, ce qui permet une régulation simultanée.

Séquence terminatrice : La transcription s'arrête après le dernier gène, grâce à une séquence terminatrice.

Régulation : La présence d'opérateurs (sites de liaison pour des régulateurs) dans ou près du promoteur permet à la cellule de moduler l'expression de ces gènes en fonction des besoins environnementaux (exemple classique : l'opéron lactose).

Autres éléments d'organisation :

Gènes isolés : Certains gènes sont transcrits indépendamment, avec leur propre promoteur et terminator.

Réplication et transcription couplées: Chez les procaryotes, la transcription et la traduction peuvent être couplées temporellement et spatialement, ce qui accélère la synthèse des protéines.

Éléments génétiques mobiles : Plasmides, transposons et intégrons peuvent transporter des gènes et contribuer à la diversité génétique.

Exercices d'application : Les éléments génétiques mobiles

Exercice 1 : QCM (une seule bonne réponse)

1. Le mouvement des cassettes génétiques dans les intégrons est réalisé par :
 - a. Une ADN polymérase
 - b. Une transposase
 - c. Une intégrase codée par le gène *intI*
 - d. Une ligase

2. Parmi les éléments suivants, lequel correspond à une caractéristique des transposons ?
 - a. Ils possèdent un site attI pour intégrer des cassettes
 - b. Ils sont incapables de se déplacer dans le génome
 - c. Ils contiennent souvent une transposase qui permet leur mobilité
 - d. Ils sont toujours circulaires comme les plasmides

Exercice 2 : Vrai ou Faux (justifiez brièvement vos réponses)

- a. Tous les plasmides contiennent des gènes de résistance aux antibiotiques.
- b. Les transposons peuvent perturber l'expression des gènes lorsqu'ils s'insèrent dans une région codante.
- c. L'expression des cassettes génétiques dans les intégrons dépend d'un promoteur situé dans le gène cassette lui-même.
- d. Les intégrons sont des éléments mobiles indépendants.

Corrigé

Exercice 1 :

Réponse correcte : c

Réponse correcte : c

Exercice 2 :

- a. Faux → Certains plasmides ne contiennent que des gènes de virulence ou autres, sans gènes de résistance.
- b. Vrai → Une insertion dans un gène codant peut interrompre son expression.
- c. Faux → L'expression dépend d'un promoteur commun (souvent appelé *P_c*) situé en amont dans l'intégron.
- d. Faux → Les intégrons ne sont pas autonomes pour leur mobilité ; ils dépendent d'autres éléments (transposons, plasmides).

2 Réplication du chromosome bactérien

Introduction générale

Chez les bactéries, la réplication de l'ADN chromosomique est un processus essentiel à la division cellulaire, assurant la transmission fidèle du patrimoine génétique. Le modèle le plus étudié est celui de *Escherichia coli*, qui possède un chromosome circulaire répliqué à partir d'une origine unique appelée oriC. Toutefois, des variantes de ce mécanisme existent, notamment chez les bactéries à génome multipartite comme *Vibrio cholerae*. (Michel & Sandler, 2017).

Structure de l'origine de réplication (oriC)

L'oriC d'*E. coli* est une région de 245 pb comprenant plusieurs séquences appelées boîtes DnaA, où se fixe la protéine initiateur DnaA. On y trouve aussi des zones riches en A-T qui facilitent la séparation des deux brins d'ADN. Cette structure est modulée par d'autres protéines régulatrices comme IHF (Integration Host Factor) et Fis, qui modifient la courbure de l'ADN pour faciliter l'assemblage du complexe d'initiation.

Dans d'autres bactéries, comme *V. cholerae*, un second chromosome contient une origine spécifique (oriC2) contrôlée par une protéine initiateur distincte appelée RctB, soulignant la diversité des systèmes de démarrage de la réplication.

Déroulement de la réplication

Initiation

La réplication débute avec l'activation de la protéine DnaA sous forme liée à l'ATP (DnaA-ATP), qui s'assemble sur les boîtes DnaA et provoque l'ouverture du duplex d'ADN. Cette ouverture permet le recrutement de l'hélicase DnaB, chargée par le chaperon DnaC, suivie par l'assemblage de la primase DnaG qui synthétise les amorces ARN nécessaires au démarrage de la synthèse.

La régulation de cette étape est cruciale pour éviter la réinitiation prématurée. Le système de méthylation de l'ADN par Dam méthylase et la protéine SeqA permet de différencier les copies récentes (hémi-méthylées) et de bloquer transitoirement leur réinitiation. De plus, la protéine Hda, couplée au clamp β , stimule l'hydrolyse de l'ATP lié à DnaA, inactivant ainsi le complexe initiateur.

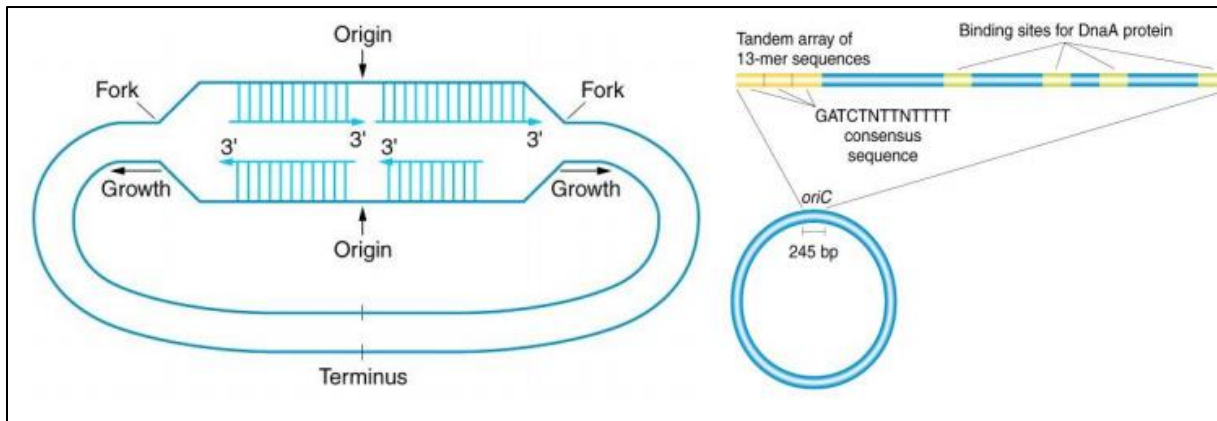


Figure 18: Origine de réplication (oriC) chez les bactéries.

oriC est une séquence spécifique de l'ADN bactérien où débute la réplication. Elle contient des boîtes DnaA, sites de fixation de la protéine DnaA, qui initie l'ouverture locale de l'ADN, permettant l'assemblage des complexes de réplication. (Michel & Sandler, 2017).

Élongation

Après initiation, deux fourches de réplication se forment et progressent dans des directions opposées, assurant une réplication bidirectionnelle. La synthèse du brin avancé est continue, tandis que le brin retardé est synthétisé de manière discontinue sous forme de fragments d'Okazaki.

Les principaux acteurs sont :

- L'ADN polymérase III holoenzyme, enzyme principale de la synthèse.
- Le clamp loader (complexe γ) et le sliding clamp (β), qui assurent l'ancrage et la processivité de la polymérase.
- Les protéines SSB (Single-Stranded Binding proteins) qui stabilisent les brins simples.
- Les topoisomérases, notamment la gyrase, qui évitent la formation de supertours en amont des fourches.

Les progrès récents en imagerie (suivi en temps réel des complexes de réplication par fluorescence, ex. DnaN-GFP) ont permis de visualiser l'organisation dynamique du replisome dans la cellule vivante. Chez certaines bactéries comme *Caulobacter crescentus*, il a été montré

que les fourches sont physiquement ancrées dans la cellule, assurant une coordination spatiale entre réplication et ségrégation.

Terminaison

La terminaison de la réplication se produit dans une zone opposée à *oriC*, contenant des sites spécifiques appelés *Ter*, reconnus par la protéine *Tus*. Ce système bloque la progression des fourches de manière orientée, empêchant leur dépassement et garantissant une terminaison ordonnée.

Une fois la réplication achevée, les chromosomes circulaires peuvent rester enchevêtrés (caténés). Leur séparation est assurée par la topoisomérase IV, qui réalise la décaténation. Ce mécanisme est crucial pour permettre la ségrégation correcte des chromosomes avant la division cellulaire. (Rashid & Berger, 2024).

Coordination avec la division cellulaire

La réplication est étroitement synchronisée avec le cycle cellulaire bactérien. Elle commence souvent à un moment précis du cycle, lié à la croissance cellulaire. Dans des conditions stressantes ou stationnaires, certaines bactéries comme *Mycobacterium tuberculosis* ralentissent ou stoppent complètement leur réplication, impliquant des régulateurs tels que *MtrA* et *ObgE*, qui participent au redémarrage post-latence.

Chez d'autres espèces, des mécanismes de multi-initiation ont été observés en croissance rapide, où plusieurs fourches de réplication coexistent dans une même cellule. Ces phénomènes sont particulièrement visibles grâce aux techniques de séquençage longue lecture (ex. SMRT sequencing) et de cartographie conformationnelle du génome (Hi-C).

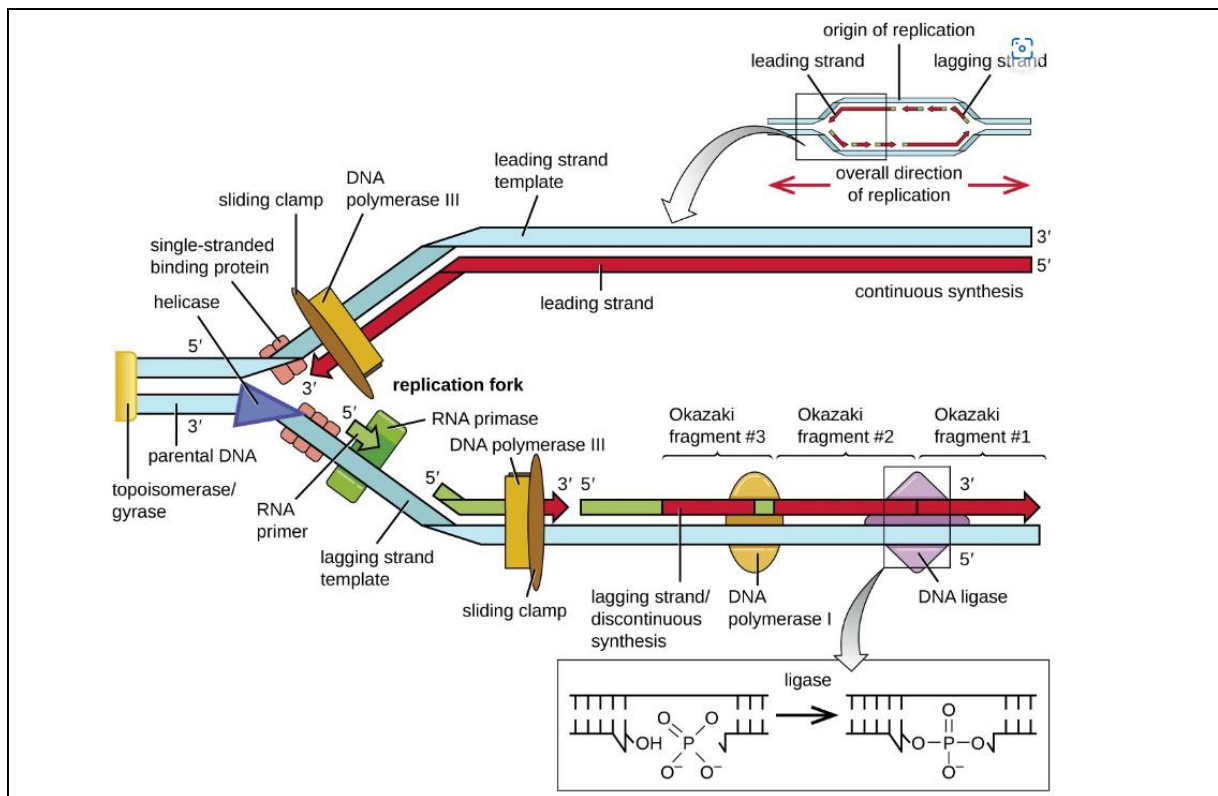


Figure 19: Réplication de l'ADN chez les bactéries.

La réplication bactérienne est bidirectionnelle à partir de l'origine unique *oriC*. Deux fourches de réplication se déplacent en sens opposé, permettant la synthèse simultanée des brins directeur et discontinu. L'hélicase déroule l'ADN, stabilisé par les protéines SSB, tandis que la primase synthétise des amorces d'ARN. L'ADN polymérase III assure l'élongation, et l'ADN polymérase I remplace les amorces par de l'ADN. La ligase scelle les fragments d'Okazaki, assurant une duplication complète du génome. (Michel & Sandler, 2017).

3 Altérations et mécanismes de réparation du génome bactérien

Définition et importance des mutations

Les mutations sont des modifications stables et héréditaires de la séquence de l'ADN. Chez les bactéries, elles constituent une source majeure de variabilité génétique, jouant un rôle clé dans l'adaptation, l'évolution et l'apparition de résistances aux antibiotiques.

Origine des mutations

1. Mutations spontanées

Elles résultent d'erreurs naturelles lors de la réplication de l'ADN ou de réactions chimiques spontanées telles que :

- **Tautomerie** des bases azotées,
- **Désamination spontanée** (ex : cytosine → uracile),
- **Dépurination** (perte d'une base purique),
- **Glissement du brin** pendant la réplication, causant des insertions ou délétions.

Le taux de mutation spontanée est estimé entre 10^{-8} et 10^{-11} par base et par génération.

2. Mutations induites

Provoquées par des agents mutagènes :

- **Physiques** : rayons UV (formation de dimères de thymine), rayons X (cassures double brin).
- **Chimiques** :
 - Analogues de bases (5-bromouracile),
 - Agents alkylants (éthylméthane sulfonate),
 - Agents intercalants (acridine orange).

Types de mutations

a. Mutations ponctuelles

- **Substitution de base** :
 - Transition (purine → purine),
 - Transversion (purine → pyrimidine).
- **Effets** :
 - Mutation silencieuse : aucun changement d'acide aminé,
 - Mutation faux-sens : changement d'acide aminé,
 - Mutation non-sens : apparition d'un codon stop prématuré.

b. Insertions et délétions

Ajout ou perte d'un ou plusieurs nucléotides. Elles peuvent entraîner un **décalage du cadre de lecture** (frameshift), altérant profondément la protéine produite.

c. Mutations étendues

Incluent des inversions, duplications ou translocations de larges fragments d'ADN, souvent causées par des recombinaisons anormales ou la mobilisation d'éléments génétiques mobiles (transposons, IS, etc.).(Watford & Warrington, 2023).

Mutations et mécanismes de réparation de l'ADN

Le système de réparation des mésappariements (MMR) chez les bactéries

- Le système de réparation des mésappariements de l'ADN (MismatchRepair, MMR) est un mécanisme essentiel qui intervient pour corriger les erreurs de réplication de l'ADN, telles que les mésappariements de bases (par exemple, une adénine appariée à une cytosine au lieu d'une thymine) et les petites insertions ou délétions. Ce processus permet de maintenir la stabilité génétique de la cellule et d'éviter l'accumulation de mutations dans le génome bactérien.
- **Mécanisme de réparation**
- Le processus de réparation des erreurs commence par la reconnaissance des erreurs de réplication par la protéine MutS. Cette dernière scrute l'ADN nouvellement répliqué et détecte les mésappariements de bases. Une fois une erreur identifiée, MutS s'attache spécifiquement au site de l'erreur pour initier la réparation.
- Ensuite, MutL est recrutée par MutS. MutL joue un rôle de coordination en agissant comme une interface entre MutS et la protéine MutH, une endonucléase qui est responsable de l'excision du brin erroné. Avant que MutH puisse effectuer son action, il doit d'abord distinguer quel brin de l'ADN est le plus récent, et donc celui à réparer. Cette distinction repose sur la méthylation de l'ADN : le brin parental est méthylé, tandis que le brin fils (nouvellement synthétisé) ne l'est pas encore. MutH, grâce à cette différence de méthylation, clive le brin fils à proximité du site de l'erreur.

- Une fois le brin fils coupé, ExoI, une exonucléase, entre en action. Elle dégrade le brin à partir du site de clivage, excisant ainsi la région qui contient l'erreur. Ce processus laisse une lacune dans l'ADN, qu'il faut ensuite remplir.
- L'ADN polymérase III prend alors le relais et utilise le brin parental intact comme matrice pour synthétiser un nouveau segment d'ADN correct, comblant ainsi la lacune créée par l'excision de la séquence erronée. Enfin, l'ADN ligase intervient pour réparer la coupure restante, en liant les fragments d'ADN et rétablissant la continuité du brin réparé.

Le système SOS chez les bactéries

Le système SOS est une réponse bactérienne globale au stress, notamment aux dommages de l'ADN causés par des agents mutagènes ou des conditions extrêmes. Ce mécanisme permet à la cellule de réparer rapidement son ADN pour survivre, mais il est également associé à un risque accru de mutations, car la réparation se fait parfois de manière moins précise.

Mécanisme de réparation SOS

Lorsqu'un dommage à l'ADN est détecté, par exemple suite à une cassure de double brin, RecA joue un rôle central dans l'activation du système SOS. En présence de dommages, RecA se lie aux brins d'ADN simples et forme un complexe filamenteux. Ce complexe permet à RecA de catalyser la dégradation de LexA, un répresseur clé du système SOS. En temps normal, LexA se lie à l'opérateur des gènes du système SOS et inhibe leur expression. Une fois que RecA active la dégradation de LexA, les gènes du système SOS sont libérés de l'inhibition et peuvent être exprimés.

Les protéines réparatrices qui sont ensuite produites incluent Pol V et UvrA, qui participent à la réparation des dommages. Pol V, également appelée ADN polymérase IV, joue un rôle essentiel dans la synthèse de l'ADN au niveau des régions endommagées. Contrairement à d'autres ADN polymérases, Pol V est capable de passer outre les dommages sans effectuer une réparation parfaite, ce qui peut mener à des erreurs et à des mutations. Ce mécanisme est appelé "synthèse translesionnelle".

Les autres protéines du système SOS, comme UvrA et UvrB, sont impliquées dans la reconnaissance et l'excision des dommages, notamment dans la réparation des lésions liées aux UV. UvrA reconnaît les lésions de l'ADN, et UvrB aide à exciser la région endommagée.

Régulation du système SOS

Le système SOS est hautement régulé pour éviter une activation excessive, car une réponse continue au stress peut être délétère pour la cellule. La régulation repose sur le contrôle de LexA, un répresseur qui maintient les gènes du SOS sous contrôle dans des conditions normales. Lorsque l'ADN est endommagé, la dégradation de LexA permet la transcription des gènes SOS, activant ainsi la réparation de l'ADN. Une fois les dommages réparés, le système SOS doit être désactivé pour empêcher la réponse SOS de devenir une source de mutations.

RecA, qui joue un rôle clé dans l'activation du système, est également impliqué dans la régulation négative du système SOS. Après réparation, RecA assure le retour à l'état normal en inhibant la production de Pol V et en permettant la réactivation de LexA.

Le système de réparation par excision de base (BER) chez les bactéries

Le système de réparation par excision de base (Base Excision Repair, BER) est une voie essentielle pour maintenir l'intégrité du génome bactérien en réparant les dommages causés à l'ADN, en particulier ceux qui affectent les bases individuelles. Ce système est activé lorsqu'une base de l'ADN est altérée, par exemple par des modifications chimiques, l'oxydation ou la déamination. Le BER permet de corriger ces erreurs sans affecter la structure globale de l'ADN, évitant ainsi des mutations ou des lésions plus graves.

Mécanisme de réparation BER

Le mécanisme du BER commence généralement par la reconnaissance du dommage par une glycosylase. Ces enzymes spécialisées sont capables de détecter et de couper le lien entre la base endommagée et le sucre du squelette de l'ADN. Ce processus génère un site apurinique/apyrimidinique (AP), qui est une position de l'ADN où la base a été retirée mais où le squelette de sucre-phosphate reste intact.

Une fois le site AP créé, Endonuclease intervient pour cliver le lien phosphodiester adjacent à l'AP site. Cela laisse une lacune dans l'ADN qui devra être réparée.

DNA Pol I, une polymérase spécialisée dans les réparations, est responsable de remplir cette lacune. Elle utilise le brin intact de l'ADN comme matrice pour synthétiser une nouvelle base au site de l'AP, en ajoutant la base correcte qui correspond à la séquence adjacente.

Finalement, le DNA ligase joue un rôle crucial en scellant la coupure restante dans le brin réparé, en rétablissant la continuité du squelette de l'ADN.

Régulation et spécificités du système BER

Le système BER est capable de corriger une grande variété de dommages aux bases, notamment :

- **Oxydation des bases** (par exemple, guanine oxydée en 8-oxoguanine).
- **Déamination** des bases (par exemple, la déamination de la cytosine en uracile).
- **Alkylation** des bases (comme l'ajout de groupes méthyle sur les bases, créant des mutations potentielles).

Les enzymes impliquées dans la reconnaissance des dommages sont spécifiques aux types de lésions. Par exemple, les OGG1 glycosylases sont impliquées dans la réparation des dommages causés par l'oxydation de la guanine, tandis que les UNG (uracile-N-glycosylase) réparent les sites où de l'uracile a été incorporé à la place d'une cytosine.

Le système BER est essentiel pour la réparation des petites altérations qui peuvent autrement s'accumuler et entraîner des mutations. Cette réparation est particulièrement importante pour éviter les mutations de transition (par exemple, remplacer une guanine par une adénine), qui peuvent être plus probables si les lésions ne sont pas réparées à temps.

Le système de réparation par excision de nucléotides (NER) chez les bactéries

Le système de réparation par excision de nucléotides (Nucleotide Excision Repair, NER) est un mécanisme essentiel permettant aux bactéries d'éliminer des lésions volumineuses de l'ADN, telles que celles causées par les radiations ultraviolettes (UV), les adduits formés par des agents chimiques ou d'autres modifications structurelles perturbant l'appariement normal des bases. Contrairement au BER, qui cible des bases individuelles endommagées, le NER excise un segment plus large d'ADN contenant la lésion.

Mécanisme de réparation NER

Le processus NER chez les bactéries repose principalement sur un ensemble de protéines appelées Uvr (ultraviolet repair), qui détectent, excisent et remplacent les segments d'ADN endommagés.

1. Détection du dommage

La reconnaissance des lésions commence avec UvrA et UvrB, qui forment un complexe de détection. UvrA est responsable du premier contact avec l'ADN et permet d'identifier les anomalies de structure, comme les dimères de pyrimidines causés par les UV. Une fois la lésion détectée, UvrA se dissocie, laissant UvrB fixé à l'ADN.

2. Ouverture de la structure ADN et recrutement de UvrC

UvrB provoque une légère distorsion de l'ADN autour de la lésion et recrute UvrC, une endonucléase qui effectue des coupures spécifiques de part et d'autre du site endommagé.

- UvrC clive le brin endommagé à environ 4-5 nucléotides du côté 3' de la lésion et 8-10 nucléotides du côté 5', créant ainsi un fragment d'environ 12-13 nucléotides contenant l'anomalie.

3. Excision du segment endommagé

Une fois les coupures effectuées, UvrD, une hélicase, intervient pour détacher et éliminer le fragment d'ADN contenant la lésion. Cela laisse une brèche dans le brin d'ADN qui doit être réparée.

4. Synthèse et ligature du nouvel ADN

L'ADN polymérase I prend le relais pour synthétiser un nouveau segment en utilisant le brin intact comme matrice. Ce processus restaure la séquence correcte. Enfin, la ligase scelle la jonction entre l'ancien et le nouveau brin, rétablissant ainsi l'intégrité de l'ADN.

Spécificité et importance du NER

Le NER est un système de réparation plus polyvalent que le BER, car il peut éliminer une large gamme de lésions volumineuses affectant la structure de l'ADN. Il est notamment essentiel pour la correction des dimères de thymine induits par les UV, qui perturbent la réplication et la transcription.

Deux formes de NER existent :

- **NER global (GG-NER)** : réparation des lésions partout dans le génome.
- **NER couplé à la transcription (TC-NER)** : réparation prioritaire des lésions bloquant l'ARN polymérase pendant la transcription, assurant ainsi la continuité de l'expression des gènes essentiels.

Réparation par recombinaison (cassures double brin DSB pour double-strand break)

- En cas de cassures de l'ADN ou si les deux brins de la molécule sont altérés, la réparation par recombinaison est utilisée.

- Deux grands types de mécanismes sont à distinguer :
- **La recombinaison illégitime (RI)**
- **la recombinaison homologue (RH)**

Le mécanisme illégitime de réparation des cassures double brin (DSB) chez les bactéries

Le mécanisme illégitime, qui est une cause majeure de réarrangement génomique, implique l'action de diverses enzymes pour réparer les cassures double brin (DSB) dans l'ADN. Une des voies principales de réparation des DSB chez les bactéries est le système de réparation non-homologue (NHEJ, Non-Homologous End Joining). Ce système permet la ligation des extrémités cassées en l'absence de séquences homologues, ou avec la présence de micro-homologies (de 1 à 10 paires de bases).

Le rôle de NHEJ dans les bactéries

Chez les bactéries, le système NHEJ est relativement simple, ce qui a permis d'identifier quelques acteurs clés dans le processus. Le modèle le plus étudié dans ce contexte est celui de *Mycobacterium tuberculosis*, où deux protéines principales, Ku et LigD, sont suffisantes pour assurer la réparation d'une DSB.

- **Protéine Ku** : La protéine Ku reconnaît les extrémités de la cassure et recrute la ligase D (LigD), initiant ainsi le processus de réparation.
- **Protéine LigD** : LigD est une protéine multifonctionnelle composée de trois domaines distincts :

- Domaine polymérase (Pol-Dom) : Ce domaine est impliqué dans la synthèse de nucléotides sur les extrémités cassées.
- Domaine ligase (Lig-Dom) : Responsable de la ligation des extrémités d'ADN.
- Domaine nucléase (Nuc-Dom) : Joue un rôle dans la résection et la gestion des extrémités cassées.

Réparation des cassures et conséquences

La réparation des cassures par NHEJ peut entraîner diverses conséquences, notamment la formation de délétions uni- ou bidirectionnelles, qui peuvent s'étendre sur plusieurs centaines de nucléotides. Ces délétions sont souvent accompagnées d'une synthèse de nucléotides, qu'il y ait ou non une matrice disponible. Cela peut conduire à l'ajout de nucléotides au niveau des extrémités cassées ou au comblement de lacunes simple-brin.

Dans certains cas, la réparation de la cassure peut être facilitée par la présence de micro-homologies, généralement comprises entre 1 et 6 nucléotides. La nature de la cassure influence également la façon dont les extrémités sont traitées :

- Extrémités à bords francs : Les extrémités à bords francs sont réparées préférentiellement par une synthèse de nucléotides en l'absence de matrice.
- Extrémités 5' sortantes : Lorsque les extrémités présentent des bases sortantes (5'), une résection des extrémités est plus fréquente, modifiant ainsi la manière dont les cassures sont réparées.

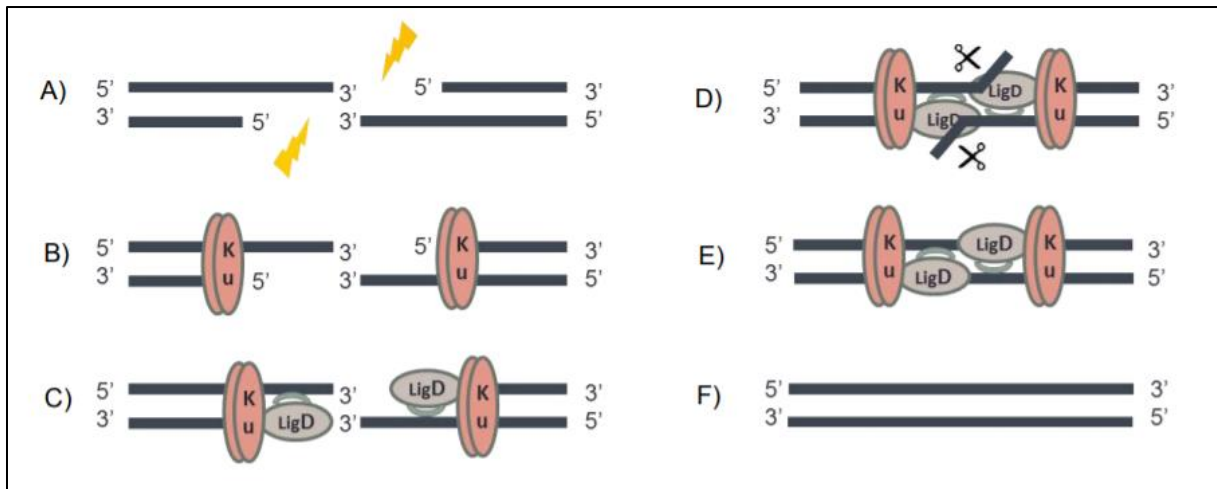


Figure 20: Représentation schématique de la réparation d'une DSB par NHEJ chez Mycobacterium

- A) Formation d'une DSB
- B) L'homodimère Ku se lie aux extrémités de l'ADN
- C) Ku recrute LigD par l'intermédiaire de Pol-Dom
- D) Traitement des extrémités par perte processive de nucléotides résultant d'une activité exonucléasique et/ou par l'ajout de nucléotides par l'activité de synthèse de Pol-Dom
- E) Ligation des extrémités par Lig-Dom
- F) Réparation de la cassure.

D'après Brissett et al., 2009 ; Pitcher et al., 2007a).

Le système NHEJ n'est pas conservé chez toutes les espèces bactériennes.

Les espèces bactériennes porteuses du NHEJ partagent en effet une caractéristique dans leur cycle biologique : soit ce sont des bactéries sporulantes (*B. subtilis*, *Streptomyces*), soit elles passent une grande partie de leur cycle biologique en phase stationnaire comme *M. tuberculosis*. Dans les deux cas, il s'agit de phase unigénomique où la réparation d'une DSB ne peut pas s'effectuer par RH.

Le mécanisme de recombinaison homologue

Les étapes de la RH

La RH comporte trois étapes : l'étape pré-synaptique, l'étape synaptique et l'étape post-synaptique.

Ces étapes sont réalisées par des complexes enzymatiques qui diffèrent selon les espèces.

L'étape pré-synaptique

L'étape pré-synaptique concerne la phase dite de maturation des extrémités des DSB.

Au cours de cette phase, les extrémités sont modifiées par une activité hélicase et nucléase afin de former un ADN simple brin 3' sortant.

Ce processus est catalysé par un complexe protéique chez les bactéries : RecBCD

Par contre, chez les eucaryotes, les facteurs impliqués sont plus nombreux.

- Le processus de la recombinaison homologue est initié avec l'ADN simple brin chargé de la protéine SSB (pour Single-StrandedbindingProtein) chez les bactéries.
- Ensuite, avec l'aide des médiateurs de la recombinaison homologue, la protéine recombinase (RecA chez les bactéries) se fixe sur l'ADN simple brin 3' sortant et forme un filament nucléoprotéique hautement organisé qui est appelé « filament pré-synaptique ».

L'étape synaptique

- Cette étape conduit à l'appariement des séquences homologues et l'échange de brin.
- Une fois assemblé, le filament pré-synaptique capture une molécule d'ADN double brin pour chercher la séquence homologue en formant le complexe synaptique.
- Une fois ce complexe formé, le filament nucléoprotéique favorise l'invasion du double-brin d'ADN par l'extrémité 3'OH simple-brin.
- Le simple-brin envahissant peut s'apparier avec son brin complémentaire et cette structure intermédiaire est appelée «D-loop».
- L'envahissement du brin est catalysé par RecA chez les bactéries.

L'étape post-synaptique

- Après la formation de la D-loop, à l'aide d'une translocase (RecG chez les bactéries), l'ADN est synthétisé en utilisant le simple-brin envahissant comme amorce et la séquence complémentaire comme matrice, jusqu'à atteindre la deuxième extrémité de la cassure.
- A cette étape, deux jonctions de Holliday (structures caractéristiques où deux brins des deux molécules d'ADN impliquées dans la recombinaison se croisent) sont présentes.
- Cette structure est résolue par des enzymes appelés «résolvases» (RuvC chez E. coli) et libère deux molécules d'ADN indépendantes

Chapitre 2 : Transferts génétiques horizontaux

Le transfert génétique chez les bactéries est un processus fondamental qui leur permet d'échanger du matériel génétique et d'acquérir de nouvelles caractéristiques, sans passer par la reproduction sexuée. Ce phénomène joue un rôle clé dans l'évolution bactérienne, leur adaptation à des environnements changeants et la transmission de traits avantageux, tels que la résistance aux antibiotiques. Il repose sur plusieurs mécanismes de transfert horizontal de gènes, qui permettent à une bactérie de recevoir et d'incorporer de l'ADN étranger. L'étude de ces mécanismes est essentielle en microbiologie, notamment pour comprendre la propagation des résistances et développer de nouvelles stratégies thérapeutiques. (Bourlon, 2023)

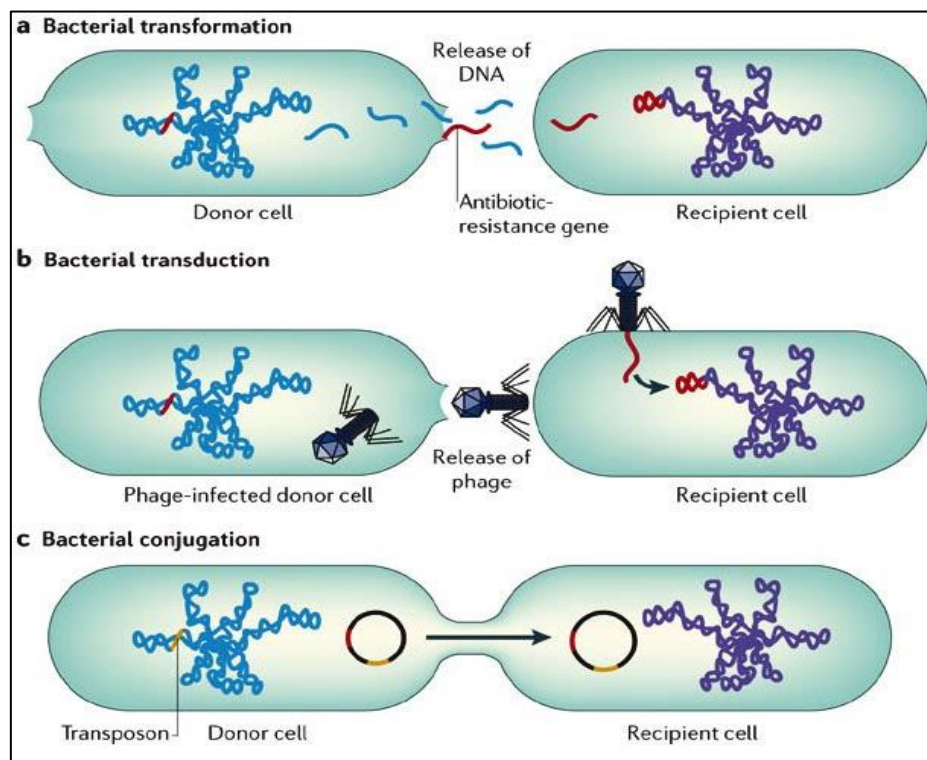


Figure 21: Principaux modes de transfert horizontal de gènes chez les bactéries.

Le transfert horizontal peut se réaliser par : (1) **transformation**, où une bactérie capture et intègre de l'ADN libre provenant de son environnement ; (2) **transduction**, par l'intermédiaire de phages qui injectent de l'ADN bactérien dans une nouvelle cellule hôte ; (3) **conjugaison**, via un contact direct entre deux bactéries permettant le transfert d'ADN plasmidique. Ces mécanismes favorisent la diversité génétique et l'adaptation rapide des populations bactériennes.

1. La transformation bactérienne

La transformation est l'un des mécanismes de transfert horizontal de gènes chez les bactéries. Elle correspond à l'incorporation d'ADN exogène par une cellule bactérienne à partir de son environnement. Ce processus peut être naturel ou induit artificiellement, cette dernière étant utilisée en biotechnologie pour l'ingénierie génétique.

La transformation naturelle

Certaines bactéries sont capables de capter et d'incorporer spontanément de l'ADN libre présent dans leur milieu. Cette capacité, appelée compétence naturelle, varie selon les espèces et dépend de conditions environnementales spécifiques. La transformation naturelle se déroule en plusieurs étapes : capture, internalisation et intégration de l'ADN exogène. (Arnold, Huang & Hanage, 2022).

a) Mécanisme chez les bactéries à Gram positif

Chez les bactéries à Gram positif, la capture de l'ADN double brin (ADN_{db}) est assurée par un pilus constitué de la protéine ComGC. L'ADN est ensuite réceptionné par ComEA, puis dégradé en un simple brin (ADN_{sb}) par une nucléase spécifique, comme EndA chez *Streptococcus pneumoniae*. L'ADN_{sb} est alors transporté dans le cytoplasme via le canal ComEC.

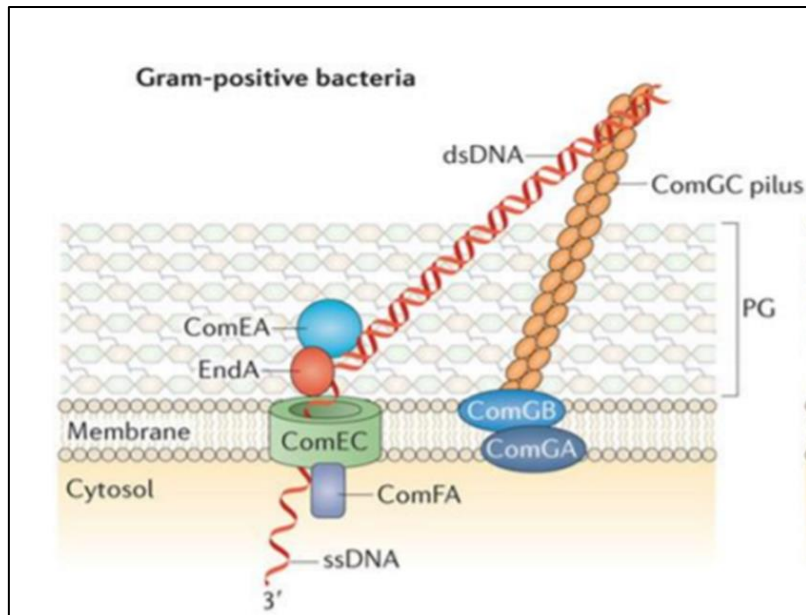


Figure 22: Transformation chez les bactéries Gram-positives.

L'ADN double brin est capté par un pilus ComGC, puis dégradé en simple brin avant d'être transporté dans la cellule via le canal ComEC. (Jonhston et al. ; 2014)

b) Mécanisme chez les bactéries à Gram négatif

Chez les bactéries à **Gram négatif**, la transformation se déroule en deux étapes distinctes en raison de la présence d'une membrane externe et d'un espace périplasmique :

1. **Capture de l'ADN** : Un pilus dédié à la transformation, composé de sous-unités PilE, traverse la membrane externe via le pore de sécrétion PilQ. Ce pilus capture l'ADN et le transfère dans le périplasme.
2. **Internalisation de l'ADN** : Une fois dans le périplasme, l'ADN est réceptionné par la protéine ComE et dégradé en ADNsb par une nucléase encore inconnue chez les bactéries à Gram négatif. L'ADNsb est ensuite transporté dans le cytoplasme via le canal ComA.

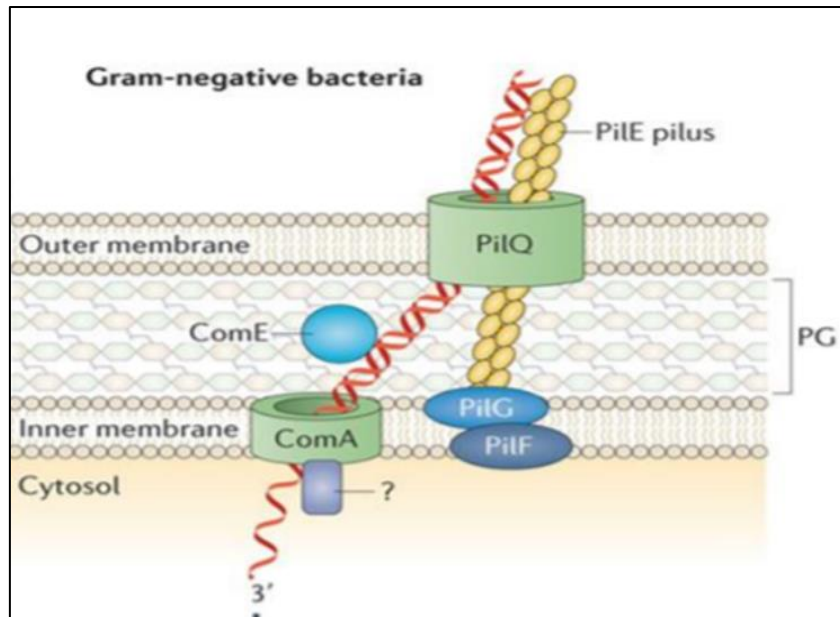


Figure 23: Transformation chez les bactéries Gram-négatives.

Un pilus PilE capture l'ADN et le transfère dans le périplasme via le pore PilQ. L'ADN est ensuite dégradé en simple brin par ComE et transporté dans le cytoplasme via le canal ComA. (Johnton et al. ; 2014).

Dans le cytoplasme, que ce soit chez les bactéries à Gram positif ou à Gram négatif, l'ADNsb est stabilisé par des protéines spécifiques comme Ssb et DprA, qui facilitent son interaction avec la protéine RecA. Cette dernière polymérise le long de l'ADNsb et favorise son intégration dans le génome bactérien par recombinaison homologue.

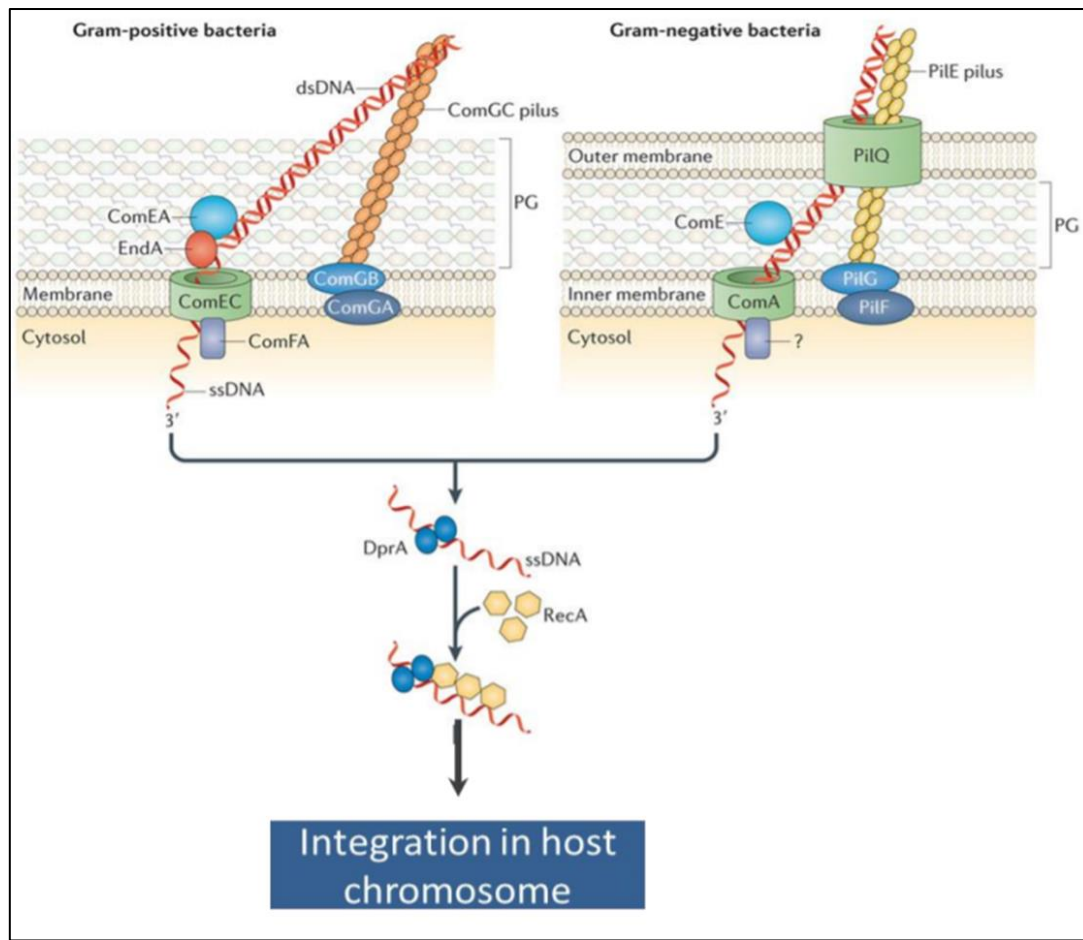


Figure 24: Stabilisation et intégration de l'ADN simple brin (ADNsb) dans le cytoplasme bactérien.

L'ADNsb est stabilisé par des protéines Ssb et DprA, qui facilitent l'interaction avec RecA. RecA polymérise le long de l'ADNsb et favorise son intégration dans le génome par recombinaison homologue. (Jonhston et al. ; 2014)

Internalisation de l'ADN plasmidique

Internalisation de l'ADN plasmidique

En général, le processus d'internalisation de l'ADN par transformation ne fait pas de distinction entre l'ADN chromosomique et l'ADN plasmidique. L'ADN plasmidique est généralement capturé sous forme de double brin (ADNdb). Contrairement à l'ADN chromosomique, souvent dégradé en fragments d'ADN simple brin (ADNsb) avant son internalisation, certains plasmides peuvent être directement introduits dans la cellule sous leur forme circulaire intacte, ce qui facilite leur stabilisation et leur maintien.

Plusieurs facteurs influencent l'établissement efficace des plasmides dans la cellule hôte :

1. **Reconstitution du plasmide** : Si le plasmide est fragmenté lors de son entrée, il doit être réassemblé en une structure circulaire fonctionnelle pour être répliqué. Les petits plasmides ont plus de chances d'être internalisés intacts, tandis que les plasmides de grande taille sont plus susceptibles d'être fragmentés.
2. **Compatibilité avec la machinerie de réplication** : La réplication du plasmide dans la cellule hôte dépend de la présence des éléments nécessaires. Certains plasmides possèdent une origine de réplication et les protéines requises pour leur réplication autonome, tandis que d'autres nécessitent des facteurs spécifiques fournis par la bactérie receveuse.

Quelques modèles de reconstitution de plasmide ont été décrits :

- **Premier modèle** : Des multimères d'ADNsb seraient internalisés. Une fois dans la cellule, la machinerie de réplication bactérienne synthétiserait le brin complémentaire, permettant ainsi la recircularisation du plasmide par hybridation.
- **Second modèle** : Un des deux brins du plasmide serait d'abord internalisé, puis la machinerie d'internalisation changerait de brin et ferait entrer le brin complémentaire. Les deux brins d'ADNsb s'hybrideraient ensuite pour reformer un plasmide circulaire fonctionnel.

Le processus d'établissement des plasmides dans les cellules bactériennes a été relativement peu exploré, bien que des études aient été menées sur *Bacillus subtilis* et *Streptococcus pneumoniae*. Cependant, il a été davantage étudié chez *Escherichia coli*, un modèle couramment utilisé en biologie moléculaire pour la transformation et la manipulation des plasmides artificiels.

Compétence bactérienne

La capacité d'une bactérie à capter et intégrer de l'ADN exogène repose sur un état physiologique spécifique appelé **compétence**. Cet état nécessite l'expression de nombreuses protéines impliquées dans la capture, l'internalisation et la prise en charge de l'ADN étranger.

Toutes les bactéries ne sont pas naturellement compétentes. Seules certaines espèces possèdent la machinerie moléculaire nécessaire à cette transformation génétique. De plus, dans la majorité des espèces compétentes, la compétence est un phénomène **transitoire** et finement régulé, ne survenant qu'à des moments précis de la croissance cellulaire.

Cependant, certaines bactéries comme *Neisseria gonorrhoeae* et *Neisseria meningitidis* constituent des exceptions : elles expriment constitutivement les protéines de compétence, ce qui les rend capables d'absorber de l'ADN en permanence, indépendamment de leur phase de croissance. (Brito, 2021).

Régulation de la compétence selon les espèces bactériennes

L'expression des gènes de compétence varie selon les espèces :

- *Deinococcus*, *Acinetobacter*, *Synechococcus* et *Chlorobium* restent compétents tout au long de leur phase exponentielle de croissance.
- *Bacillus subtilis* déclenche la compétence à la transition entre la phase exponentielle et la phase stationnaire.
- *Streptococcus pneumoniae* n'est compétent que pendant une quarantaine de minutes en début de phase exponentielle.

Outre la durée de la compétence, la proportion de cellules compétentes au sein d'une population diffère également selon les espèces :

- Chez *Bacillus subtilis*, seulement 5 à 10 % des cellules d'une culture deviennent compétentes.
- En revanche, *Streptococcus pneumoniae* atteint une compétence homogène, touchant 100 % de la population.

Induction de la compétence et rôle du CSP

Les conditions environnementales, notamment les paramètres physico-chimiques et nutritionnels du milieu, influencent l'induction de la compétence bactérienne. Dans certains cas, cette induction repose sur des signaux moléculaires spécifiques.

Chez *Streptococcus pneumoniae*, la compétence est déclenchée de manière coordonnée par un peptide signal, appelé CSP (*Competence Stimulating Peptide*). Ce peptide de 17 acides aminés est sécrété dans le milieu et permet d'induire la compétence au sein de toute la population bactérienne. Le gène *comC* code le précurseur de ce peptide (pré-CSP), et il a été démontré que le CSP n'est pas modifié post-traductionnellement. Ainsi, un peptide CSP synthétique est aussi fonctionnel que celui produit naturellement, ce qui facilite son utilisation en laboratoire.

Grâce à la possibilité de déclencher la compétence artificiellement en ajoutant du CSP synthétique, *Streptococcus pneumoniae* est devenu un outil puissant en génétique bactérienne, permettant des manipulations génétiques ciblées et efficaces.

Rôle de la transformation bactérienne

La transformation joue un rôle essentiel dans :

- **L'acquisition de nouveaux traits génétiques** : Permettant une meilleure adaptation aux conditions environnementales.
- **La dissémination de la résistance aux antibiotiques** : Favorisant la propagation de gènes de résistance parmi les populations bactériennes.
- **L'évolution bactérienne** : En introduisant des variations génétiques qui peuvent conférer des avantages sélectifs.
- **Les applications en biotechnologie** : Exploitée pour la modification génétique et la production de protéines recombinantes.

2.La transduction

La transduction est un mécanisme de transfert horizontal de gènes dans lequel un bactériophage, en tant que vecteur viral, transfère de l'ADN d'une bactérie donneuse à une bactérie receveuse. Contrairement à la transformation et à la conjugaison, ce processus ne nécessite aucun contact direct entre les cellules bactériennes et repose exclusivement sur l'intermédiaire viral.

Ce phénomène joue un rôle fondamental dans l'évolution bactérienne en facilitant l'acquisition de nouveaux déterminants génétiques, notamment ceux impliqués dans la résistance aux antibiotiques et la virulence. Il a été mis en évidence pour la première fois en 1952 par Joshua Lederberg et Norton Zinder, à travers l'étude du phage P22 chez *Salmonella typhimurium*. Par la suite, la transduction a également été observée chez *Escherichia coli*, notamment avec les phages P1 et T1.(Good et al., 2025).

Mécanisme de la transduction bactérienne

La transduction est un processus au cours duquel un bactériophage transfère du matériel génétique d'une bactérie donneuse à une bactérie receveuse. Ce transfert suit plusieurs étapes distinctes :

1. Infection de la bactérie donneuse

Un bactériophage se fixe à la surface d'une bactérie et y injecte son ADN viral à travers la paroi cellulaire. Cette étape marque le début du cycle viral dans la bactérie hôte.

2. Réplication et assemblage des nouveaux phages

À l'intérieur de la bactérie infectée, le matériel génétique viral peut détourner la machinerie cellulaire pour produire de nouveaux virions. Lors de ce processus, certaines particules virales incorporent accidentellement des fragments d'ADN bactérien au lieu de leur propre génome.

3. Lyse et libération des phages

Une fois la multiplication virale achevée, la bactérie hôte éclate sous l'effet des enzymes lytiques produites par le phage, libérant ainsi les nouveaux bactériophages, y compris ceux contenant des fragments d'ADN bactérien.

4. Infection de la bactérie receveuse

Ces phages porteurs d'ADN bactérien infectent une nouvelle bactérie. Cependant, au lieu d'induire un cycle viral complet, certains injectent le fragment d'ADN bactérien qu'ils transportent dans le cytoplasme de la cellule hôte.

5. Recombinaison avec le génome bactérien

Une fois dans la bactérie receveuse, l'ADN transféré peut s'intégrer au génome bactérien par recombinaison homologue, permettant l'acquisition de nouvelles caractéristiques génétiques. Ce processus peut influencer la survie et l'adaptation bactérienne, notamment en conférant une résistance aux antibiotiques ou en augmentant la virulence.

Conséquences de l'intégration de l'ADN

Deux types de réponses peuvent être observés en fonction du type de phage impliqué et de l'ADN transféré :

- **Réponse lysogénique** : L'ADN transféré, s'il contient des séquences virales intactes, peut s'intégrer sous forme de **prophage** dans le chromosome bactérien. Dans ce cas, les gènes viraux responsables de la réplication restent silencieux, bien que certains puissent être partiellement exprimés, notamment ceux conférant des avantages à la bactérie (facteurs de virulence, résistance à des conditions hostiles, etc.).
- **Réponse lytique** : Si le phage suit un cycle lytique, il utilise la bactérie receveuse pour produire un grand nombre de nouveaux phages, entraînant finalement la lyse (destruction) de la cellule hôte et la dissémination des virions dans l'environnement.

Ce mécanisme de transfert horizontal joue un rôle majeur dans la dynamique évolutive des populations bactériennes en favorisant la diversité génétique et l'émergence de souches pathogènes plus résistantes ou virulentes.

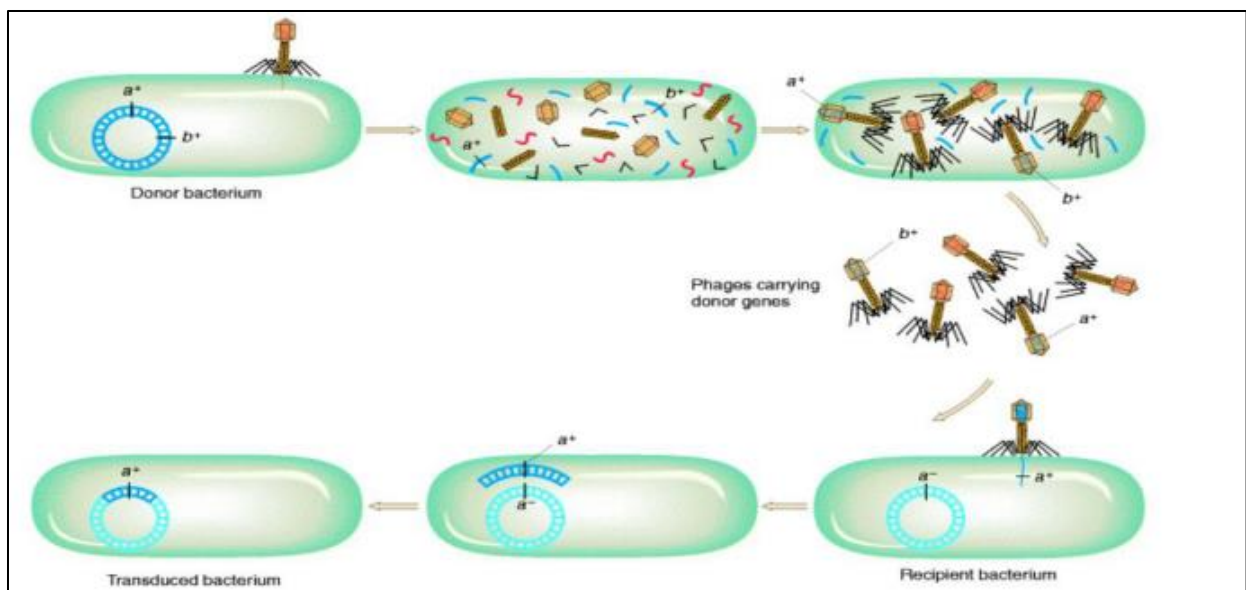


Figure 25: Transduction bactérienne.

Un phage capture accidentellement un fragment d'ADN bactérien lors de sa réplication. Ce matériel génétique est ensuite transféré à une nouvelle bactérie lors de l'infection, favorisant le transfert horizontal de gènes.

Importance de la transduction

La transduction joue un rôle fondamental dans la biologie bactérienne et l'évolution des populations microbiennes. Son impact s'étend à plusieurs domaines, notamment la génétique, la résistance aux antibiotiques et la pathogénicité.

1. Rôle dans l'évolution bactérienne

En facilitant le transfert horizontal de gènes, la transduction contribue à la diversification génétique des bactéries. Ce processus permet l'échange de matériel génétique entre souches, favorisant ainsi l'adaptation à de nouveaux environnements.

2. Acquisition de la résistance aux antibiotiques

La transduction est un mécanisme clé dans la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques. Certains phages transportent des séquences codant pour des enzymes capables de dégrader ou d'inactiver des antibiotiques, conférant ainsi un avantage sélectif aux bactéries receveuses. Ce phénomène est un enjeu majeur en santé publique, car il favorise l'émergence de bactéries multirésistantes.

3. Augmentation de la virulence bactérienne

De nombreux phages sont responsables du transfert de gènes de virulence, contribuant à l'émergence de souches pathogènes plus agressives. Par exemple, le phage λ est impliqué dans l'acquisition de toxines chez *Escherichia coli*, tandis que le phage CTX ϕ est responsable de la toxine cholérique chez *Vibrio cholerae*.

4. Utilisation en biotechnologie et en recherche

La transduction est exploitée en laboratoire pour l'ingénierie génétique des bactéries. Ce mécanisme permet de modifier le génome bactérien de manière ciblée en transférant des séquences d'intérêt. Il est couramment utilisé pour l'insertion de gènes, l'étude de mutations et la construction de souches génétiquement modifiées.

5. Impact sur l'écologie microbienne

Dans les écosystèmes naturels, la transduction influence la dynamique des communautés bactériennes en favorisant l'échange génétique. Ce processus permet aux bactéries de s'adapter

à des conditions environnementales changeantes, notamment en milieu aquatique, dans le sol ou dans le microbiote humain.

2. La conjugaison bactérienne

La conjugaison bactérienne est un mode majeur de transfert horizontal de gènes. Ce processus permet le transfert direct d'ADN d'une bactérie donneuse à une bactérie receveuse via un contact cellulaire. Il joue un rôle crucial dans l'adaptation bactérienne, notamment par la diffusion rapide de gènes de résistance aux antibiotiques et de facteurs de virulence. (Hinnekens et al.2022)

Mécanisme Général de la Conjugaison

Formation du Pilus Sexuel

La conjugaison débute par la synthèse d'un pilus sexuel, une structure protéique filamenteuse qui s'étend depuis la cellule donneuse. Ce pilus, souvent constitué de sous-unités spécifiques comme la protéine TraA chez *Escherichia coli* (plasmide F), sert à reconnaître et établir le contact avec la cellule receveuse.

Rapprochement et Formation du Pont Conjugal

Une fois le contact établi, le pilus se rétracte, rapprochant les cellules. Cette étape permet la formation d'un pont conjugal, un canal de transfert entre les deux bactéries.

Transfert de l'ADN via le Système de Sécrétion de Type IV (T4SS)

Le transfert d'ADN s'opère par un système de sécrétion de type IV, un complexe protéique multi-membranaire. Une relaxase spécifique réalise une coupure au niveau de l'origine de transfert (*oriT*) du plasmide, libérant un brin simple d'ADN (ADNsb) qui est transféré dans la cellule receveuse. Le brin complémentaire est synthétisé dans chaque cellule pour reconstituer un ADN double brin complet.

Diversité des Systèmes Conjugatifs

Variations chez les Bactéries Gram-négatives et Gram-positives

Les systèmes conjugatifs varient largement selon le type de bactérie. Chez les Gram-négatives, le pilus sexuel est souvent bien caractérisé, tandis que chez les Gram-positives, les pili peuvent être absents et le contact cellulaire est assuré par des protéines de surface spécialisées.

Conjugaison dans les Biofilms

Les biofilms, communautés bactériennes enrobées dans une matrice extracellulaire, favorisent la conjugaison en augmentant la proximité cellulaire et en stabilisant les plasmides transférés. Ceci amplifie la dissémination de gènes adaptatifs, comme ceux de résistance aux antibiotiques.

Régulation de la Conjugaison

Contrôle de l'Expression des Gènes Conjugatifs

L'expression des gènes codant pour le pilus et le système de transfert est finement régulée par des répresseurs, activateurs et ARN non codants. Cette régulation ajuste la conjugaison en fonction de la densité cellulaire, des conditions environnementales et des signaux tels que la présence d'antibiotiques.

Adaptation Dynamique en Fonction de la Pression Sélective

Certaines études récentes ont montré que la fréquence de transfert peut augmenter en présence d'antibiotiques, permettant une dissémination rapide des gènes de résistance sous pression sélective.

Impact Écologique et Évolutif

Rôle dans l'Évolution Microbienne

La conjugaison accélère l'évolution bactérienne en facilitant l'échange rapide de gènes au sein des microbiotes naturels et artificiels. Elle contribue à l'émergence de nouvelles

caractéristiques, telles que la résistance aux antimicrobiens ou l'adaptation à des niches écologiques variées.

Interactions avec d'Autres Modes de Transfert Horizontal

Les systèmes conjugatifs peuvent interagir avec d'autres mécanismes, comme la transformation naturelle, augmentant la plasticité génétique et la capacité d'adaptation des bactéries.

4 . Carte génétique

La carte génétique bactérienne est une représentation ordonnée des gènes sur le chromosome. Elle est construite à partir de la fréquence de recombinaison entre les gènes, c'est-à-dire leur tendance à être transférés ensemble lors de phénomènes de transfert horizontal, comme la conjugaison ou la transduction. Contrairement à une carte physique, qui s'appuie sur des distances en paires de bases, la carte génétique exprime des distances en minutes ou unités de recombinaison.

a) Établissement de la carte par conjugaison (méthode du croisement interrompu)

La technique la plus classique de cartographie génétique chez *Escherichia coli* repose sur l'utilisation de souches Hfr (haute fréquence de recombinaison). Ces souches transfèrent leur matériel génétique à une cellule réceptrice par conjugaison, de manière linéaire et ordonnée, à partir d'un point d'origine (*oriT*).

En interrompant la conjugaison à des temps précis (par agitation mécanique, par exemple), on peut identifier l'ordre d'entrée des gènes dans la cellule réceptrice. Plus un gène entre tôt, plus il est proche de l'origine de transfert. L'ordre d'apparition permet de tracer une carte linéaire des gènes, exprimée en minutes, en considérant que le transfert complet du chromosome prend environ 100 minutes.

b) Établissement de la carte par transduction

Certains bactériophages, comme le phage P1, peuvent transporter accidentellement des fragments d'ADN bactérien d'une cellule à une autre. En étudiant la fréquence à laquelle deux gènes sont co-transduits, on peut déterminer leur **proximité** sur le chromosome : des gènes très proches ont plus de chances d'être transférés ensemble.

c) Intérêt de la carte génétique

- Comprendre l'organisation du génome bactérien.
- Identifier les gènes responsables de traits phénotypiques.
- Étudier les relations entre différents gènes (épistasie, co-localisation).
- Suivre les événements de recombinaison ou de transfert horizontal.

Exercices d'applications

Exercice 1 : Transformation bactérienne

Une souche bactérienne A est sensible à un antibiotique. On expose cette souche à de l'ADN libre provenant d'une souche B résistante à cet antibiotique. Après incubation, certaines bactéries A deviennent résistantes.

Questions :

1. Quel mécanisme de transfert génétique horizontal est illustré ici ?
2. Expliquez brièvement les étapes principales de ce mécanisme.

Quelles conditions favorisent la transformation naturelle chez les bactéries ?

Exercice 2 : Conjugaison et transfert plasmidique

Une bactérie donneuse possède un plasmide conjugatif F (fertilité) portant un gène de résistance aux aminoglycosides. Elle est mise en contact avec une bactérie receveuse dépourvue de ce plasmide.

Questions :

1. Quel est le rôle du pilus dans la conjugaison ?
2. Décrivez le processus de transfert du plasmide F entre ces bactéries.
3. Que signifie "transfert de plasmide à haute fréquence" ?

Exercice 3 : Transduction et carte génétique

Un bactériophage lysogène injecte son ADN dans une bactérie, puis intègre son génome dans celui de la bactérie. Un phage est capable d'emporter accidentellement un gène bactérien lors de l'assemblage.

Questions :

1. Expliquez le mécanisme de transduction généralisée.
2. Comment la transduction peut-elle être utilisée pour construire une carte génétique bactérienne ?
3. Quelle est la différence entre transduction généralisée et spécialisée ?

Corrigés

Exercice 1

1. Mécanisme : Transformation.
2. Étapes :
 - Capture d'ADN libre par la bactérie.
 - Intégration de l'ADN exogène dans le génome bactérien via recombinaison.
 - Expression des nouveaux gènes conférant la résistance.
3. Conditions favorables : Compétence naturelle de la bactérie, présence d'ADN libre, conditions environnementales (stress, densité cellulaire).

Exercice 2

1. Le pilus forme un pont entre la bactérie donneuse et la receveuse pour le transfert d'ADN.
2. Le plasmide F est copié par un mécanisme de réplication en rouleau, une copie simple brin passe dans la bactérie receveuse via le pont formé par le pilus.
3. "Transfert de plasmide à haute fréquence" signifie que le plasmide est transféré très efficacement et rapidement dans une population bactérienne.

Exercice 3

1. La transduction généralisée se produit quand un phage lytique encapside accidentellement un fragment d'ADN bactérien au lieu de son propre ADN et injecte ce fragment dans une autre bactérie.
2. En observant la fréquence avec laquelle des gènes sont transférés ensemble par transduction, on peut déterminer leur proximité sur le génome bactérien, permettant de construire une carte génétique.
3. Transduction généralisée : transfert aléatoire d'ADN bactérien par un phage lytique.
Transduction spécialisée : transfert de gènes spécifiques situés à proximité du site d'intégration du prophage dans un phage lysogène.

Chapitre 3 : Biosynthèse des protéines

1 La transcription

La majorité des gènes contiennent l'information nécessaire à la synthèse des protéines. Ces informations sont transcrites sous forme d'ARN messager (ARNm), qui servira ensuite à la synthèse protéique. Lors de la transcription, le code génétique de l'ADN, constitué des bases A, G, C et T, est recopié en une molécule d'ARN où la thymine (T) est remplacée par l'uracile (U).

Chez les procaryotes, la transcription et la traduction sont couplées : dès qu'un ARNm est transcrit, il peut être immédiatement traduit en protéine. Contrairement aux eucaryotes qui possèdent plusieurs ARN polymérases, les procaryotes ne disposent que d'une seule ARN polymérase capable de transcrire tous les gènes.

Mécanisme de la Transcription

Chez les bactéries, l'ARN polymérase est un complexe enzymatique constitué de cinq sous-unités : $\alpha_2\beta\beta'\sigma$. Chacune joue un rôle spécifique dans la transcription :

- **Le facteur σ** est responsable de la reconnaissance du promoteur, une région spécifique de l'ADN située en amont du gène.

- Les sous-unités α , β et β' assurent la catalyse de la transcription et la stabilisation du complexe.

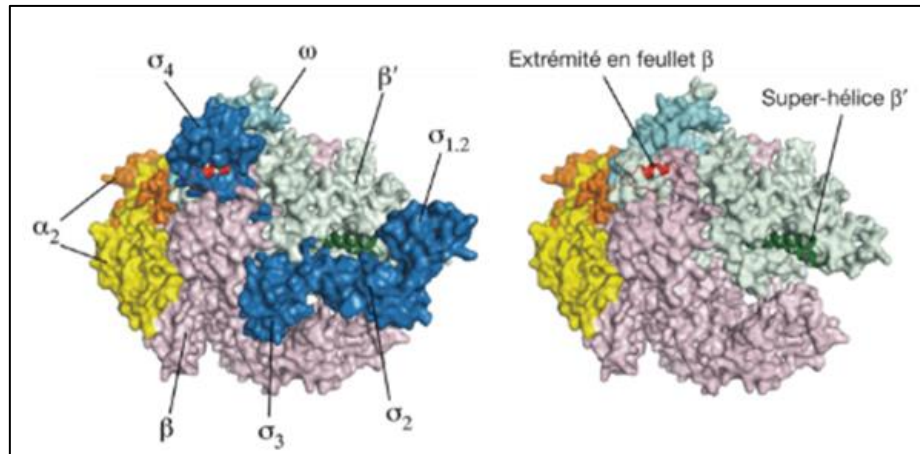


Figure 26: Structure de l'ARN polymérase bactérienne.

Complexe formé des sous-unités α_2 , β , β' , ω et du facteur σ . Le cœur enzymatique ($\alpha_2\beta\beta'\omega$) assure la synthèse de l'ARN, tandis que σ guide l'enzyme vers le promoteur.

Les promoteurs d'*E. coli* contiennent deux régions essentielles :

- La boîte -10 (boîte Pribnow) : une séquence riche en AT, généralement TATATT, facilitant l'ouverture de la double hélice d'ADN.
- La boîte -35 : une séquence conservée TTGACA, nécessaire à la fixation de l'ARN polymérase.

1.1 Initiation

L'initiation commence par la fixation du facteur σ sur le promoteur, recrutant ainsi l'ARN polymérase. Cette fixation permet l'ouverture locale de la double hélice d'ADN, créant une bulle de transcription. Un des deux brins, appelé brin matrice ($3' \rightarrow 5'$), est utilisé comme modèle pour la synthèse de l'ARN dans le sens $5' \rightarrow 3'$. Le premier nucléotide incorporé est généralement une purine (A ou G).

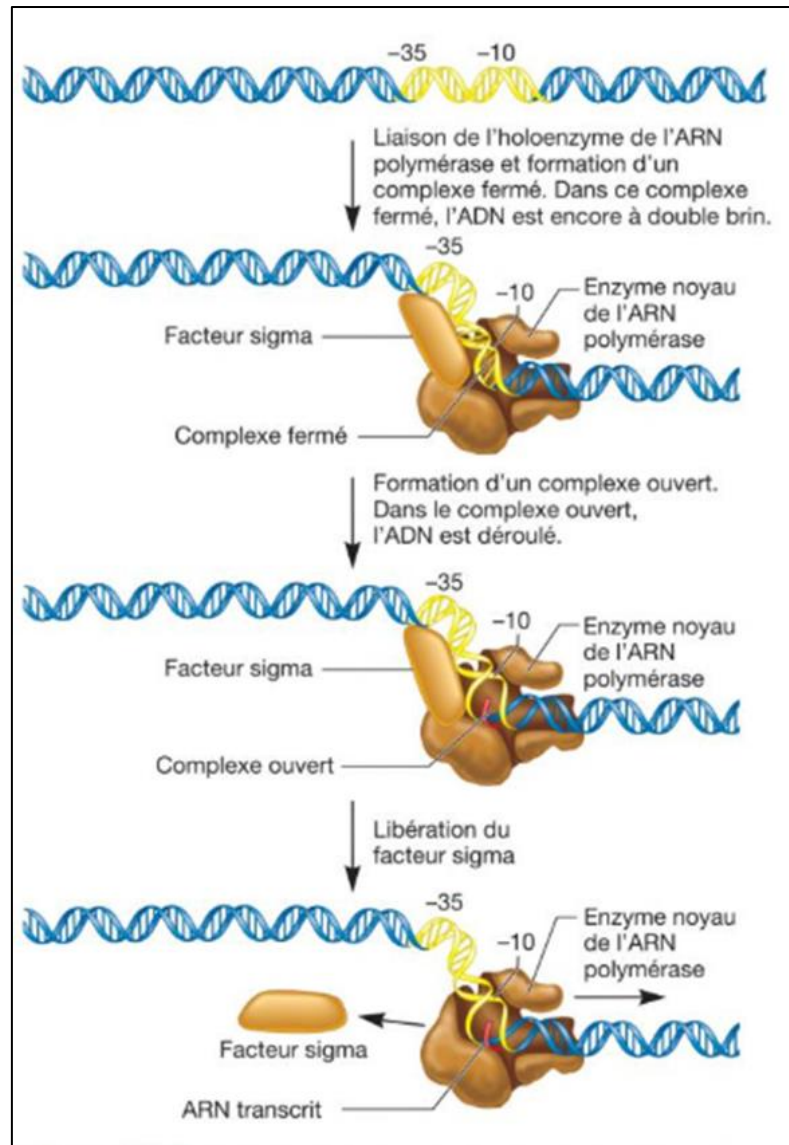


Figure 27: Étapes de l'initiation de la transcription bactérienne.

- Fixation de l'ARN polymérase holoenzyme (cœur + facteur σ) au promoteur, ouverture locale de l'ADN (complexe ouvert), puis début de la synthèse d'ARN. (Ana G. Abril et al. ; 2020).

1.2 Élongation

Une fois la chaîne d'ARN en croissance atteignant environ 10 nucléotides, le facteur σ se détache, laissant place aux sous-unités catalytiques. L'ARN polymérase avance sur l'ADN matrice, ajoutant des nucléotides complémentaires par formation de liaisons phosphodiester. La sous-unité β catalyse la polymérisation des nucléotides tandis que β'

stabilise l'enzyme sur l'ADN. L'élongation progresse à une vitesse d'environ 30 à 60 nucléotides par seconde.

1.3 Terminaison

La transcription s'arrête lorsque l'ARN polymérase rencontre une séquence de terminaison. Il existe deux types de terminaison chez les procaryotes :

- **Terminaison intrinsèque** : repose sur une séquence riche en GC suivie d'une région polyadénylée (A). Cette structure favorise la formation d'une boucle en épingle à cheveux dans l'ARN naissant, entraînant la dissociation de l'ARN polymérase et la libération de l'ARNm.
- **Terminaison dépendante du facteur rho (ρ)** : un facteur protéique rho se fixe sur l'ARN et, en hydrolysant l'ATP, provoque le détachement de l'ARN polymérase de l'ADN.

Après la terminaison, l'ARNm est immédiatement prêt pour la traduction sans nécessiter de modifications post-transcriptionnelles comme chez les eucaryotes.

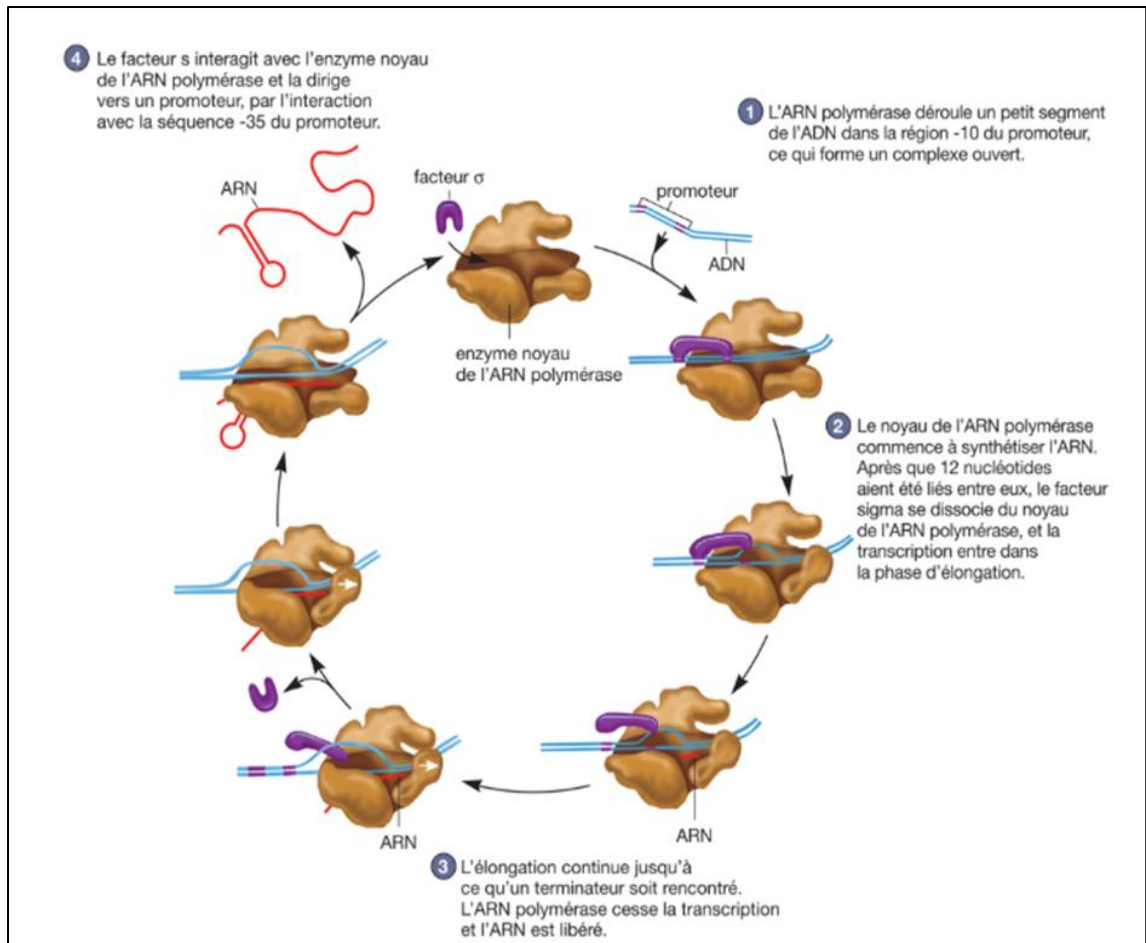


Figure 28: Cycle de la transcription bactérienne.

Le cycle comprend l'initiation (fixation de l'ARN polymérase au promoteur via le facteur σ), l'élongation (synthèse de l'ARNm) et la terminaison (libération de l'ARNm et de l'ARN polymérase). (Ana G. Abril et al. ; 2020).

2 Traduction chez la bactérie

La traduction est une étape clé de l'expression génétique, durant laquelle le code génétique porté par l'ARN messenger (ARNm) est converti en une séquence d'acides aminés formant une protéine fonctionnelle. Chez les bactéries, ce processus est rapide, coordonné avec la transcription et fortement régulé afin de s'adapter aux fluctuations de l'environnement et aux besoins métaboliques.

La compréhension approfondie des mécanismes de la traduction bactérienne et de ses multiples niveaux de régulation est aujourd'hui enrichie par les avancées en biologie structurale, en transcriptomique et en génomique fonctionnelle (Pinto et al., 2021; Merino et al., 2008).

2.1 Le ribosome bactérien et les acteurs de la traduction

1. Structure du ribosome bactérien

Le ribosome bactérien est un complexe ribonucléoprotéique composé de deux sous-unités :

- Petite sous-unité 30S, comprenant l'ARNr 16S et 21 protéines ribosomiques, responsable de la décodification de l'ARNm.
- Grande sous-unité 50S, contenant les ARNr 23S et 5S, associée à 34 protéines, qui assure la catalyse de la liaison peptidique.

Ensemble, elles forment le ribosome 70S, siège central de la synthèse protéique.

Sites fonctionnels :

- Site A (Accepteur) : entrée de l'ARNt chargé.
- Site P (Peptidyl) : fixation de l'ARNt porteur de la chaîne peptidique en cours.
- Site E (Exit) : sortie de l'ARNt déchargé.

1.2. Autres acteurs clés

- ARN messenger (ARNm) : souvent polycistronique chez les bactéries, il contient la séquence Shine-Dalgarno facilitant la fixation du ribosome.
- ARNt : adaptateur spécifique chargé d'un acide aminé.
- Facteurs protéiques : facteurs d'initiation (IF1, IF2, IF3), d'élongation (EF-Tu, EF-G, EF-Ts), de terminaison (RF1, RF2, RF3), et de recyclage (RRF).

2. Les étapes du processus de traduction

a. Initiation

1. Formation du complexe d'initiation : la petite sous-unité 30S, en présence d'IF1, IF3 et IF2, reconnaît la séquence Shine-Dalgarno de l'ARNm, positionnant le codon d'initiation AUG.
2. Association du fMet-ARNt au site P via IF2.

3. Assemblage de la grande sous-unité 50S, libération des facteurs d'initiation et début de l'élongation.

b. Élongation

L'élongation est cyclique :

- EF-Tu transporte les ARNt au site A.
- EF-G facilite la translocation du ribosome.
- La liaison peptidique est catalysée par le centre peptidyl-transférase de la grande sous-unité.

c. Terminaison

À l'arrivée d'un codon stop, les facteurs de libération (RF1 ou RF2) reconnaissent le site A et catalysent l'hydrolyse de la chaîne peptidique, suivie du démantèlement du complexe ribosomal par RF3 et RRF.

3. Mécanismes de régulation de la traduction bactérienne

3.1. Régulation transcriptionnelle couplée à la traduction

Chez les bactéries, transcription et traduction sont couplées spatialement et temporellement. La traduction active peut rétroagir sur la stabilité de l'ARNm ou sur la vitesse de transcription.

3.2. Régulation au niveau de l'initiation

3.2.1. Masquage du site Shine-Dalgarno

La formation de structures secondaires ou la fixation de protéines ou ARN régulateurs peut empêcher la fixation du ribosome.

3.2.2. Action des sRNAs régulatrices

Les petits ARN (sRNAs) interagissent avec l'ARNm, soit en masquant ou révélant le site SD, soit en facilitant la dégradation de l'ARNm. Ces mécanismes permettent une réponse rapide aux signaux environnementaux.

3.2.3. Riboswitches

Certains ARNm contiennent des riboswitches qui, en réponse à des métabolites (ex : SAM, thiamine), modifient leur conformation pour activer ou réprimer l'initiation de la traduction.

3.3. Régulation globale en réponse au stress

3.3.1. Réponse stringente

Lors de carence en acides aminés, le ppGpp (guanosine tétraphosphate) module globalement l'expression des gènes, en réduisant la traduction des protéines non essentielles.

3.3.2. Hibernation des ribosomes

En conditions de stress sévère (faim, stationnaire), les ribosomes entrent en état d'hibernation (formation de complexes 100S) via des facteurs spécifiques comme HPF (hibernation promoting factor) et RMF (ribosome modulation factor).

3.4. Modifications post-transcriptionnelles influençant la traduction

Des modifications chimiques de l'ARNm (comme la méthylation) ont été mises en évidence récemment comme modulatrices de l'efficacité de la traduction (Pinto et al., 2021).

3.5. Régulation post-traductionnelle rétroactive

Certains produits de traduction agissent en autocontrôle, se fixant sur leur propre ARNm ou sur des facteurs de traduction pour moduler leur synthèse.

Chapitre 4 : Régulation de l'expression des gènes

Chez les bactéries et la plupart des organismes unicellulaires, l'expression des gènes est finement régulée afin d'adapter la production des protéines aux variations de l'environnement. Cette régulation permet à la cellule d'optimiser l'utilisation de ses ressources en ne synthétisant que les protéines essentielles à sa survie et à son fonctionnement dans des conditions données. Ainsi, une cellule bactérienne ne produit à un instant donné que les protéines requises, malgré l'ensemble des gènes présents dans son génome.

La régulation de l'expression génique chez les microorganismes est extrêmement efficace et peut se faire à plusieurs niveaux, depuis l'ADN jusqu'à la protéine fonctionnelle. Cette régulation peut inclure :

- La modification de la structure du gène (épigénétique bactérienne, méthylation de l'ADN, etc.).
- Le contrôle de la transcription par l'activation ou la répression de l'ARN polymérase.
- La maturation de l'ARN messager, bien que rare chez les procaryotes.
- La régulation de la traduction par des mécanismes comme l'initiation préférentielle ou l'inhibition par des facteurs protéiques.
- La stabilisation et la dégradation des ARN messagers, influençant la durée de vie des ARNm et donc la quantité de protéines produites.

Définition et concept de l'opéron

Chez les procaryotes, la régulation de l'expression génique repose en grande partie sur une organisation spécifique des gènes en unités fonctionnelles appelées opérons. Un opéron est une structure génétique composée de plusieurs gènes de structure organisés en une unité de transcription sous le contrôle d'un même promoteur.

Un opéron est constitué des éléments suivants :

- Gènes de structure : Ce sont des gènes codant pour des protéines ayant une fonction commune, généralement impliquées dans une même voie métabolique.
- ARN messager polycistronique : Contrairement aux eucaryotes où chaque ARNm code en général pour une seule protéine, l'opéron bactérien produit un ARNm polycistronique, c'est-à-dire un ARNm unique contenant plusieurs cadres de lecture ouverts (ORF). Chaque ORF correspond à un gène de l'opéron et sera traduit en une protéine distincte.
- Promoteur : Région de l'ADN où l'ARN polymérase se fixe pour initier la transcription.
- Opérateur : Séquence d'ADN qui sert de site de liaison à des protéines régulatrices, contrôlant ainsi l'accès de l'ARN polymérase au promoteur.
- Gène régulateur : Gène codant pour une protéine régulatrice (répresseur ou activateur) qui interagit avec l'opérateur pour moduler l'expression des gènes de l'opéron.

Dans un opéron classique, la transcription est généralement soumise à une régulation fine par des protéines spécifiques qui activent ou répriment l'expression en fonction des besoins cellulaires. L'exemple le plus emblématique de ce système est l'opéron lactose

(lac), qui permet aux bactéries d'adapter l'expression des enzymes de dégradation du lactose en fonction de la disponibilité de ce sucre dans l'environnement.

1. L'opéron lactose

L'opéron lactose est un opéron inductible qui régule l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme du lactose chez *Escherichia coli*. Il contient trois gènes de structure, (Pinto et al., 2021).

- lacZ : code pour la β -galactosidase, une enzyme qui hydrolyse le lactose en glucose et galactose.
- lacY : code pour la perméase du lactose, une protéine membranaire facilitant l'entrée du lactose dans la cellule.
- lacA : code pour la transacétylase, une enzyme dont la fonction précise dans le métabolisme du lactose est moins bien définie.

La régulation de l'opéron lactose repose sur l'action du gène régulateur lacI, qui code pour un répresseur spécifique. En l'absence de lactose, ce répresseur se lie à l'opérateur, empêchant ainsi l'ARN polymérase d'initier la transcription des gènes de l'opéron.

Lorsque du lactose est présent dans le milieu, il est converti en allolactose, un métabolite qui agit comme un inducteur en se liant au répresseur LacI. Cette interaction modifie la conformation du répresseur, l'empêchant de se fixer à l'opérateur. L'ARN polymérase peut alors se lier au promoteur et transcrire les gènes lacZ, lacY et lacA, permettant ainsi la production des enzymes nécessaires à l'utilisation du lactose comme source d'énergie.

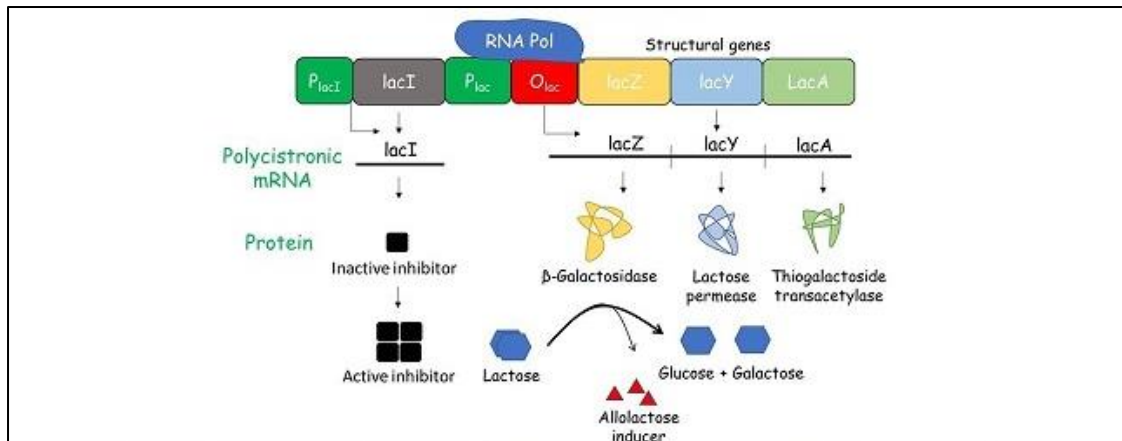


Figure 29: Structure de l'opéron lactose.

L'opéron comprend le gène régulateur *lacI*, le promoteur (P), l'opérateur (O) et les gènes structuraux *lacZ*, *lacY* et *lacA*.

Régulation en présence de glucose et de lactose

L'opéron lactose est également soumis à un contrôle par la, catabolite activatorprotein (CAP) et l'AMP cyclique (AMPc). Lorsque le glucose est abondant, la concentration d'AMPc est faible, ce qui empêche l'activation de CAP. Cette absence de CAP lié réduit l'efficacité de l'initiation de la transcription de l'opéron lac, même en présence de lactose.(Pinto et al., 2021).

En revanche, lorsque le glucose est absent et que le lactose est disponible, la concentration d'AMPc augmente. L'AMPc se lie alors à CAP, formant un complexe qui se fixe sur une séquence spécifique en amont du promoteur. Cette fixation facilite la liaison de l'ARN polymérase et active fortement la transcription des gènes de l'opéron lac, optimisant ainsi l'utilisation du lactose comme source d'énergie.

2. L'opéron tryptophane

L'opéron tryptophane (*trp*) est un opéron répressible qui régule la synthèse du tryptophane chez *E. coli*. Il est constitué de cinq gènes de structure (*trpE*, *trpD*, *trpC*, *trpB*, et *trpA*), qui codent pour des enzymes impliquées dans la biosynthèse du tryptophane. (Merino et al., 2008).



Figure 30: Structure de l'opéron tryptophane.

L'opéron tryptophane comprend un promoteur (P), un opérateur (O), un leader (L) et cinq gènes structuraux (*trpE*, *trpD*, *trpC*, *trpB*, *trpA*) impliqués dans la biosynthèse du tryptophane.

La régulation de cet opéron repose sur un répresseur inactif produit par le gène régulateur *trpR*. En présence de tryptophane, ce dernier agit comme un corépresseur en se liant au répresseur, rendant celui-ci actif. Le complexe répresseur-*trp* se fixe alors sur l'opérateur, bloquant la transcription.

Lorsque le tryptophane est absent, le répresseur reste inactif, permettant à l'ARN polymérase de transcrire les gènes de l'opéron et d'initier la biosynthèse du tryptophane.

Un autre mécanisme de régulation est l'atténuation, un contrôle post-transcriptionnel qui ajuste la transcription en fonction de la concentration en tryptophane. Une séquence leader située en amont des gènes de structure forme des structures secondaires de l'ARNm qui favorisent ou bloquent la transcription en fonction de la disponibilité du tryptophane.

En présence de tryptophane, la traduction rapide du peptide leader empêche la formation d'une structure anti-terminatrice et favorise la formation d'une structure terminatrice, stoppant ainsi la transcription. En absence de tryptophane, le ribosome se bloque sur les codons *trp*, permettant la formation d'une structure anti-terminatrice et la poursuite de la transcription des gènes de l'opéron.

3. Système modulateur d'expression : l'atténuation

L'atténuation est un mécanisme de régulation transcriptionnelle particulièrement bien décrit chez certaines bactéries, notamment dans l'opéron du tryptophane chez *Escherichia coli*. Ce système permet de moduler l'expression des gènes en fonction de la disponibilité d'un acide aminé spécifique, ici le tryptophane, grâce à une régulation fine au niveau de la terminaison prématurée de la transcription.

Principe de l'atténuation

Lors de la transcription de l'opéron, une région leader située en amont des gènes structuraux peut former différentes structures secondaires d'ARN (des boucles) qui déterminent si la transcription va se poursuivre ou s'arrêter prématurément. Ces structures sont influencées par la vitesse de traduction du peptide leader, dépendante elle-même de la disponibilité des acides aminés.

- En conditions riches en tryptophane, les ribosomes traduisent rapidement le peptide leader, permettant la formation d'une structure terminatrice dans l'ARNm, ce qui bloque la transcription des gènes structuraux.
- En conditions pauvres en tryptophane, la traduction ralentit au niveau des codons codant le tryptophane, empêchant la formation de la structure terminatrice et permettant ainsi la transcription complète de l'opéron.

Importance biologique

Ce système permet à la bactérie d'économiser de l'énergie en exprimant uniquement les enzymes nécessaires à la biosynthèse du tryptophane quand cet acide aminé est rare dans l'environnement.

4. Régulation par inversion de séquences d'ADN

La régulation par inversion de séquences d'ADN est un mécanisme de commutation génétique utilisé par certaines bactéries pour alterner rapidement entre deux états phénotypiques. Cette

inversion est souvent réversible et concerne une séquence d'ADN contenant un promoteur ou un élément régulateur, permettant d'activer ou d'éteindre l'expression d'un ou plusieurs gènes.

Mécanisme

- Une séquence d'ADN flanquée de sites recombinatoires spécifiques peut être inversée par l'action d'enzymes appelées recombinases (ex : intégrases, invertases).
- L'inversion modifie l'orientation d'un promoteur, ce qui active ou réprime la transcription des gènes en aval.
- Ce processus est stochastique et réversible, ce qui permet à une population bactérienne de diversifier son expression génique.

Exemples

- Chez *Salmonella*, la commutation de phase des flagelles est contrôlée par l'inversion d'une séquence contenant le promoteur du gène flagellaire, permettant à la bactérie d'échapper au système immunitaire de l'hôte.
- Chez d'autres bactéries, ce mécanisme peut contrôler l'expression de facteurs de virulence ou de pili.

Rôle adaptatif

Cette stratégie confère un avantage sélectif en permettant une variation phénotypique rapide, essentielle pour la survie dans des environnements changeants ou lors d'interactions avec l'hôte.

Exercices

QCM – Régulation de l'expression génique

1. Dans l'opéron lactose (lac), quel rôle joue la protéine répresseur en absence de lactose ?

- a) Elle active la transcription des gènes lac
- b) Elle se lie à l'opérateur et bloque la transcription
- c) Elle se lie à l'ADN et facilite la liaison de l'ARN polymérase
- d) Elle dégrade le lactose

2. Quelle molécule agit comme inducteur naturel dans l'opéron lactose ?

- a) Glucose
- b) Lactose
- c) Allolactose
- d) Tryptophane

3. Dans l'opéron tryptophane, que se passe-t-il lorsque le tryptophane est abondant ?

- a) L'opéron est activé pour produire plus de tryptophane
- b) Le répresseur lié au tryptophane se lie à l'opérateur et bloque la transcription
- c) L'atténuation empêche la formation d'un terminateur de transcription
- d) Le promoteur est modifié par inversion d'ADN

4. Le mécanisme d'atténuation régule la transcription par :

- a) Modification chimique de l'ADN
- b) Formation de structures secondaires dans l'ARNm
- c) Liaison d'un répresseur à l'opérateur
- d) Phosphorylation de l'ARN polymérase

5. Lors d'une faible concentration en tryptophane, quel événement permet la transcription des gènes de biosynthèse ?

- a) Le ribosome se déplace rapidement sur le peptide leader
- b) Une structure terminatrice d'ARN se forme, stoppant la transcription
- c) Le ribosome stagne sur les codons trp du peptide leader, empêchant la formation du terminateur
- d) Le répresseur est activé

6. Quel est le rôle principal de l'allolactose dans l'opéron lactose ?

- a) Se fixer sur le répresseur et inhiber sa liaison à l'opérateur
- b) Bloquer la transcription des gènes lac
- c) Activer la synthèse de glucose
- d) Dégrader le lactose

Réponses

1. b) Elle se lie à l'opérateur et bloque la transcription
2. c) Allolactose
3. b) Le répresseur lié au tryptophane se lie à l'opérateur et bloque la transcription
4. b) Formation de structures secondaires dans l'ARNm
5. c) Le ribosome stagne sur les codons trp du peptide leader, empêchant la formation du terminateur
6. a) Se fixer sur le répresseur et inhiber sa liaison à l'opérateur

Chapitre

Les champignons

(La levures comme système modèle)

Partie 2 : Les champignons (La levures comme système modèle)

Objectif :

Explorer les particularités génétiques des levures, utilisées comme organismes modèles, pour comprendre les concepts fondamentaux de la génétique eucaryote, y compris la génétique mitochondriale, la complémentation et l'analyse des mutations.

Introduction

Les champignons, ou Fungi, forment un règne distinct au sein des organismes eucaryotes, à côté des animaux et des plantes. Ce sont des organismes hétérotrophes (incapables de produire leur propre matière organique) qui se nourrissent par absorption, en décomposant la matière organique de leur environnement. Ils jouent un rôle écologique essentiel en tant que décomposeurs ou symbiotes, mais certains peuvent aussi être pathogènes.

Le règne fongique est très diversifié et comprend trois grands types :

- Les champignons filamenteux (ou moisissures), comme *Aspergillus* ou *Penicillium*, formés de hyphes qui s'entrelacent en un mycélium.
- Les levures, champignons unicellulaires, qui se reproduisent souvent par bourgeonnement ou scissiparité.
- Les champignons supérieurs, à fructification visible (comme les cèpes, bolets, etc.).

Tous les champignons partagent certaines caractéristiques :

- Une paroi cellulaire riche en chitine
- Un métabolisme eucaryote
- Une reproduction complexe, souvent sexuée et asexuée
- Une grande variété de modes de vie : saprophytes, parasites, symbiotiques.

1 Les levures

1.1 Généralités

Les levures sont des champignons unicellulaires appartenant au règne des Fungi. Contrairement aux moisissures, elles ne forment pas de mycélium filamenteux, bien que certaines espèces puissent alterner entre une forme unicellulaire et filamenteuse. Leur taille varie généralement

entre 3 à 10 microns, et elles se reproduisent majoritairement par bourgeonnement, parfois par fission.

Structure des levures

Les levures sont des eucaryotes unicellulaires possédant une organisation cellulaire complexe. Leur paroi cellulaire rigide, composée principalement de glucanes, mannoprotéines et chitine, assure la protection et la forme de la cellule. À l'intérieur, on retrouve un noyau bien délimité contenant le matériel génétique, des mitochondries responsables de la respiration cellulaire, une vacuole servant au stockage et à la dégradation, ainsi qu'un réticulum endoplasmique et un appareil de Golgi impliqués dans la synthèse et le tri des protéines. La membrane plasmique, riche en ergostérol, régule les échanges avec l'environnement. Cette organisation rend les levures proches des cellules des organismes supérieurs tout en restant simples à manipuler, ce qui en fait un modèle idéal pour l'étude génétique.

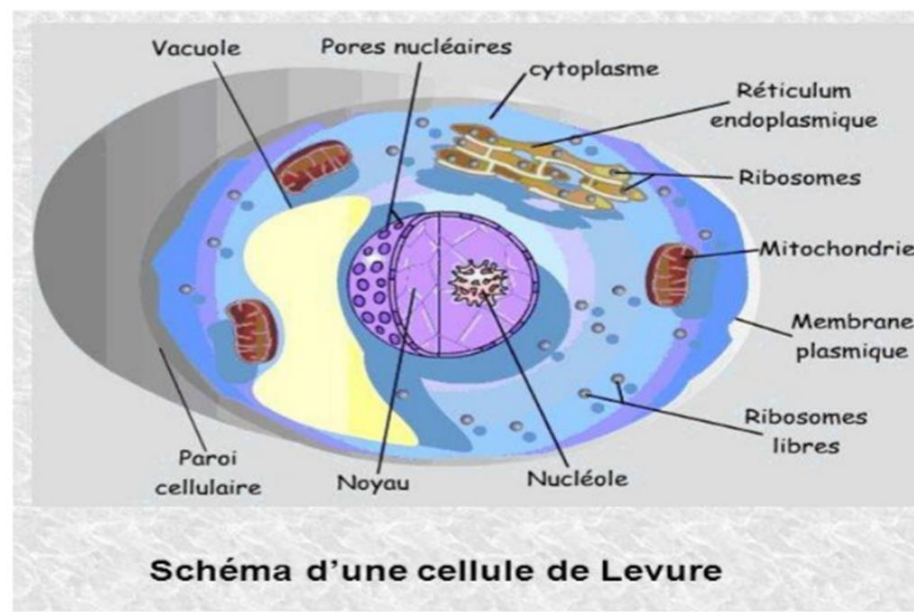


Figure 31: Structure d'une cellule de levure

Cellule eucaryote unicellulaire avec paroi rigide, noyau contenant l'ADN, mitochondries, réticulum endoplasmique, appareil de Golgi, vacuoles et ribosomes

1.2 Culture et nutrition de la levure

Les levures, principalement *Saccharomyces cerevisiae*, sont des micro-organismes eucaryotes unicellulaires largement utilisés en laboratoire. Leur culture en milieu liquide ou solide nécessite des conditions spécifiques favorisant leur croissance rapide.

Milieus de culture :

- Milieu riche (ex. : YPD - extrait de levure, peptone, glucose) favorise une croissance rapide sans nécessité de supplémentation.
- Milieu minimal (ex. : SD - SyntheticDefined) permet d'étudier les besoins nutritionnels en fournissant uniquement les éléments essentiels, avec possibilité d'ajouter des acides aminés, vitamines ou bases selon les souches utilisées.

Conditions de croissance :

- Température optimale : généralement 30°C.
- pH optimal : environ 5-6.
- Levures peuvent croître en aérobie ou anaérobie (fermentation en absence d'oxygène).

Sources nutritionnelles :

- Glucides (principalement glucose) comme source d'énergie.
- Azote sous forme d'ammonium ou d'acides aminés.
- Éléments minéraux (sels, phosphates, magnésium).
- Vitamines (ex. : biotine) indispensables pour certaines souches.

Les levures, et en particulier l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*, sont largement utilisées comme organismes modèles en génétique moléculaire. Leur génome de petite taille, entièrement séquencé et bien annoté, ainsi que leur capacité à se reproduire rapidement et à être facilement manipulées génétiquement, en font un outil précieux pour l'étude des mécanismes fondamentaux des cellules eucaryotes.

Intérêt génétique de *S. cerevisiae*

- *S. cerevisiae* peut exister sous forme haploïde ou diploïde, ce qui facilite l'analyse des mutations, la réalisation de croisements et l'étude des caractères héréditaires.
- Les croisements entre souches haploïdes permettent l'analyse des phénotypes et l'identification des gènes responsables.
- Les levures peuvent être transformées de manière efficace, permettant l'introduction ciblée de gènes étrangers, de marqueurs de sélection ou de cassures dirigées pour étudier la fonction génétique ou les voies de réparation de l'ADN.
- Elles constituent également un modèle pour le criblage génétique, les études de suppressions ou d'interactions génétiques, et la production de protéines recombinantes.

2 Le génome des levures

Caractéristiques du génome de *Saccharomyces cerevisiae*

- Le génome est composé de 16 chromosomes linéaires.
- Taille totale du génome : environ 12 à 13 millions de paires de bases (Mb).
- Nombre total de gènes identifiés : environ 6572 gènes, dont une majorité sont bien caractérisés.
- Les chromosomes présentent des centromères et télomères plus simples que ceux des eucaryotes supérieurs, facilitant leur étude.
- Environ 23 % d'homologie a été observée avec le génome humain, ce qui rend les résultats obtenus chez la levure extrapolables à certaines fonctions humaines.

ADN extra-chromosomique : les plasmides

- En plus du génome nucléaire, *S. cerevisiae* contient de petites molécules d'ADN circulaire appelées plasmides.
- L'un des plus connus est le 2 μ m plasmide, long d'environ 6000 paires de bases.
- Présent en 50 à 100 copies par cellule, ce plasmide est autoreplicatif et autotransférable, sans affecter la viabilité de la cellule.

- Il est souvent utilisé comme base pour la construction de vecteurs d'expression en génétique des levures.

3 Transcriptome de la levure :

Les levures, comme *Saccharomyces cerevisiae*, possèdent une machinerie de transcription similaire à celle des eucaryotes supérieurs. Elles possèdent trois ARN polymérases, chacune spécialisée dans la transcription de types d'ARN différents (ARNm, ARNr, et ARNt). L'ARN polymérase II (**ARN Pol II**) est responsable de la transcription des gènes codant pour des protéines. (Sibirny, 2017).

La structure du promoteur et le rôle de la boîte TATA :

Les promoteurs eucaryotes contiennent généralement une séquence riche en T et A, la boîte TATA, qui est une séquence conservée de 7 à 8 nucléotides. Elle est située environ 25 à 30 nucléotides en amont du site d'initiation de la transcription. Cette boîte est essentielle pour l'initiation de la transcription, car elle sert de point d'ancrage pour les facteurs généraux de la transcription.

Les étapes de la transcription par l'ARN Pol II :

Pré-initiation :

La transcription chez *Saccharomyces cerevisiae* commence par l'assemblage du complexe de pré-initiation (PIC). Ce complexe est constitué de plusieurs facteurs généraux de transcription (FGT), dont :

- TFIID : Il contient la TBP (TATA-binding protein) qui se lie à la boîte TATA, et d'autres sous-unités qui recrutent l'ARN Pol II.
- TFIIA, TFIIB, TFIIF, TFIIE, TFIIH.

L'assemblage de ces facteurs au niveau du promoteur réalise la mise en place de la machinerie de transcription.

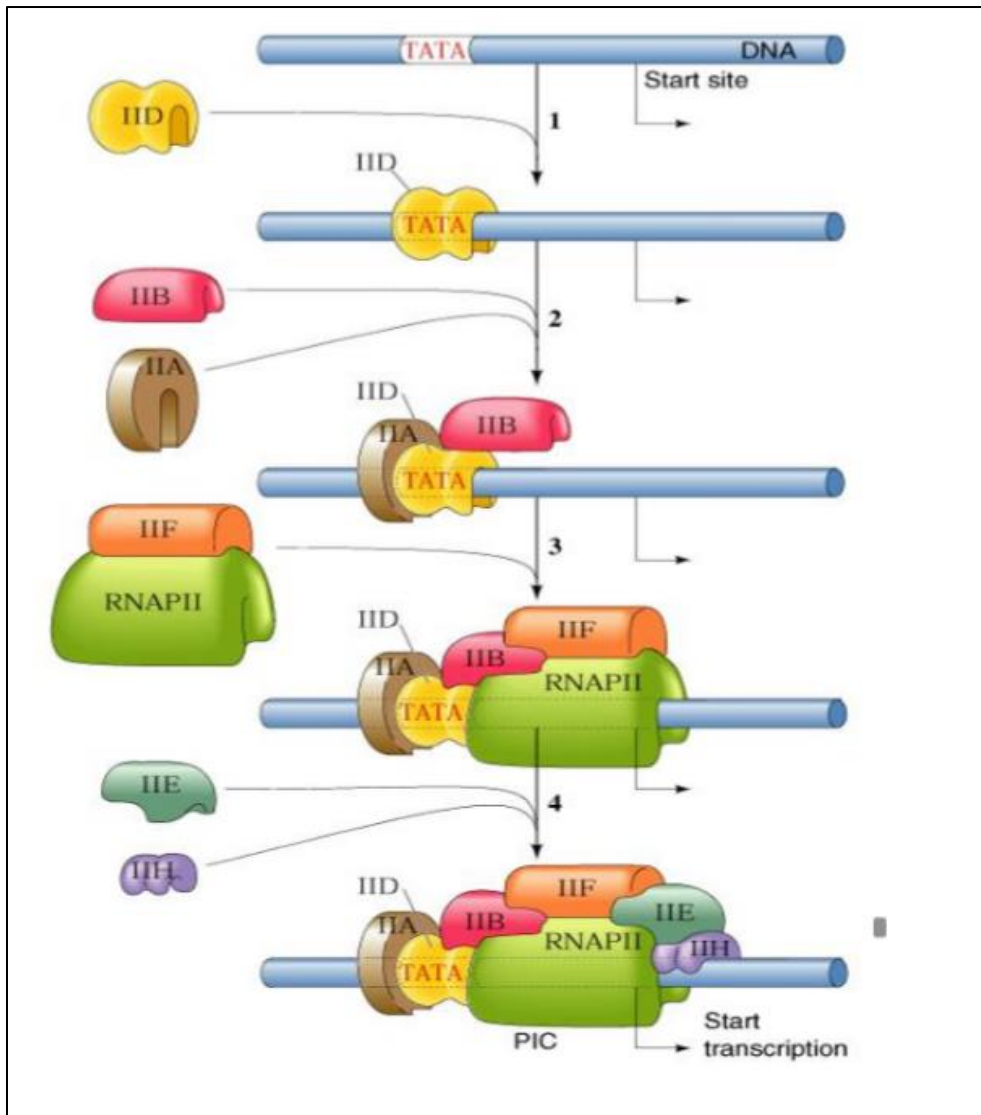


Figure 32: Transcription chez la levure

Fixation de l'ARN polymérase II au promoteur (initiation), synthèse de l'ARN (élongation), maturation (épissage, coiffe, polyadénylation), puis terminaison et libération de l'ARN mature.

John Wiley & Sons, 2008.

Initiation :

- TFIIF a plusieurs fonctions :
 - Activité hélicase : Elle ouvre la double hélice d'ADN au niveau du site d'initiation de la transcription, nécessitant l'hydrolyse de l'ATP.
 - Activité kinase : Elle phosphoryle l'ARN polymérase II, ce qui permet à l'ARN Pol II de commencer la transcription et de libérer les facteurs de transcription généraux.

Élongation :

- L'ARN Pol II lit le brin d'ADN matrice dans le sens 3' → 5', ce qui permet la synthèse de l'ARNm dans le sens 5' → 3'.
- L'ARNm est synthétisé à partir des ribonucléotides (A, U, C, G), qui sont ajoutés à la chaîne en croissance jusqu'à ce que des signaux de terminaison soient rencontrés.

Terminaison :

- L'ARN Pol II termine la transcription lorsque des signaux de terminaison sont atteints. L'ARN polymérase se détache de l'ADN, libère le transcrit primaire, et la double hélice d'ADN se referme.

Modifications post-transcriptionnelles :

Les ARNm transcrits subissent plusieurs modifications avant de quitter le noyau pour le cytoplasme.

a) Coiffe 5' :

- Lorsque l'ARNm atteint environ 20 à 30 nucléotides, une coiffe 7-méthyl-guanosine est ajoutée à l'extrémité 5' de l'ARNm par une liaison phosphodiester.
- Cette coiffe protège l'ARNm de la dégradation et facilite son exportation vers le cytoplasme, ainsi que l'initiation de la traduction.

b) Polyadénylation (queue poly-A) :

- L'extrémité 3' de l'ARNm subit un clivage au niveau de la séquence AAUAAA, puis une queue poly-A est ajoutée. Cette polyadénylation est réalisée par une poly-A polymérase.
- Cette queue poly-A joue un rôle crucial dans la stabilité de l'ARNm et son transport vers le cytoplasme.

c) Épissage des introns :

- Les introns sont éliminés par un processus appelé épissage. Ce mécanisme se fait en présence de complexes ribonucléoprotéiques appelés snRNP (Small

nuclearrribonucleoproteins). Les snRNP (U1 à U6) sont des complexes composés d'ARNsn et de protéines.

- L'épissage consiste à lier les exons ensemble et éliminer les introns sous forme de lariat.

4 Le protéome des levures

Traduction chez *Saccharomyces cerevisiae*

La traduction est le processus par lequel l'information génétique portée par l'ARNm est utilisée pour synthétiser des protéines. Chez les levures, ce processus est similaire à celui des autres eucaryotes, bien qu'il existe quelques caractéristiques spécifiques. (Sibirny, 2017).

Étapes de la traduction

1. Initiation de la traduction

L'initiation de la traduction chez les levures est un processus complexe impliquant plusieurs facteurs et étapes clés.

- Reconnaissance de la coiffe 5' : L'ARNm eucaryote présente une coiffe 5' (7-méthyl-guanosine) qui est essentielle pour la reconnaissance de l'ARNm par les ribosomes. Cette coiffe est reconnue par un complexe de protéines qui facilitent le recrutement de la petite sous-unité ribosomale (40S).
- Recrutement des facteurs d'initiation : Plusieurs facteurs d'initiation de la traduction (eIFs, tels que eIF1, eIF2, eIF3, etc.) sont nécessaires pour assembler le complexe d'initiation. eIF2 se lie à la méthionine initiatrice (Met-tRNA) et à l'ARNm pour positionner la petite sous-unité du ribosome (40S) au niveau de la coiffe 5' de l'ARNm.
- Mouvement sur l'ARNm : Le complexe ribosomal assemble un pré-complex d'initiation qui se déplace le long de l'ARNm en direction du codon AUG (le codon de départ), grâce à un processus appelé scanning. Une fois que la petite sous-unité du ribosome rencontre le codon AUG, elle se lie et l'initiation commence.
- Association de la grande sous-unité ribosomale (60S) : Une fois que le codon de départ est reconnu, la grande sous-unité ribosomale (60S) se fixe à la petite sous-

unité (40S), formant un ribosome complet 80S. Ce complexe est prêt pour la phase d'élongation.

2. Élongation de la traduction

L'élongation est le processus par lequel le ribosome synthétise la chaîne polypeptidique à partir de l'ARNm en ajoutant des acides aminés un par un.

- Entrée des aminoacyl-ARNt : Lors de chaque cycle d'élongation, un aminoacyl-ARNt (un ARN de transfert chargé avec un acide aminé) entre dans le site A du ribosome en correspondance avec le codon sur l'ARNm. Ce processus est facilité par des facteurs d'élongation comme eEF1A et eEF1B.
- Peptidyltransférase : Une fois que l'ARNt est positionné dans le site A, la chaîne polypeptidique croissante, qui est attachée à l'ARNt dans le site P, est transférée à l'acide aminé du site A. Cette réaction est catalysée par l'activité peptidyltransférase du ribosome.
- Translocation du ribosome : Après l'ajout de l'acide aminé, le ribosome se déplace le long de l'ARNm d'un codon, un processus appelé translocation. Cela permet de libérer le site P pour qu'un nouveau aminoacyl-ARNt puisse entrer dans le site A et que le cycle d'élongation puisse recommencer.

3. Terminaison de la traduction

La terminaison de la traduction se produit lorsque le ribosome rencontre un codon stop (UAA, UAG, ou UGA) sur l'ARNm. Cela provoque l'activation de facteurs de terminaison.

- Facteurs de terminaison (eRF) : Les facteurs de terminaison, comme eRF (eukaryotic release factor), se lient au codon stop dans le site A et catalysent la libération du polypeptide nascent du ribosome. L'eRF déplace l'eau dans la réaction, permettant l'hydrolyse de la liaison entre l'acide aminé final et l'ARNt dans le site P, libérant ainsi la protéine nouvellement synthétisée.
- Dissociation du ribosome : Après la libération du polypeptide, le ribosome se dissocie en ses sous-unités (40S et 60S) grâce à l'action des facteurs de dissociation (par exemple ABCE1), permettant au ribosome de se recycler pour un autre cycle de traduction.

Modifications post-traductionnelles

Après la synthèse, les protéines subissent souvent des modifications post-traductionnelles, qui incluent :

- **Phosphorylation** : Modifie l'activité et la localisation de la protéine.
- **Acétylation et méthylation** : Modifications qui affectent la stabilité ou l'interaction avec d'autres molécules.
- **Clivage protéolytique** : Certaines protéines sont produites sous forme de précurseurs inactifs et doivent être clivées pour devenir actives.

Régulation de la traduction

Chez la levure, la traduction est régulée de manière transitoire en réponse à des signaux environnementaux (stress, nutrition, etc.). Des facteurs de traduction tels que eIF4E (qui se lie à la coiffe 5') et TOR (Target of Rapamycin), une voie de signalisation, contrôlent l'initiation de la traduction en fonction des conditions cellulaires.

La génétique des organismes haploïdes

Après avoir exploré les mécanismes fondamentaux de la transcription et de la traduction chez *Saccharomyces cerevisiae*, il est essentiel de se pencher sur la génétique et la transmission des caractères chez d'autres modèles de champignons, tels que *Neurospora crassa*. En effet, bien que la machinerie de transcription et traduction soit similaire chez ces organismes, les méthodes de transmission génétique et de calcul des distances entre gènes varient. Ces variations permettent de mieux comprendre la localisation des gènes, leurs interactions et leur rôle dans la diversité génétique des populations. C'est dans ce contexte que l'analyse de la ségrégation des gènes et le calcul des distances entre eux deviennent essentiels pour la cartographie génétique, comme nous allons le voir à travers l'étude de la transmission d'un caractère et de la distance génétique chez *Neurospora crassa*.

5 Analyse des mutations biochimiques des tétrades

Transmission d'un caractère chez *Neurospora crassa*

La génétique des champignons modèles comme *Neurospora crassa* repose sur l'analyse de la transmission des caractères génétiques au sein des populations haploïdes. En effet, la transmission de caractères spécifiques, tels que les traits phénotypiques liés à des allèles spécifiques, peut être suivie à travers les étapes de réduction et de post-réduction dans le cycle de vie des asques. (Ralser, 2019).

1. Transmission d'un seul caractère

Lorsqu'un caractère est déterminé par un seul gène, l'observation des types d'asques permet de déterminer si ce gène est lié ou indépendant par rapport à un autre gène. Chez *Neurospora crassa*, les asques peuvent présenter différents types de ségrégation des spores, selon la présence ou l'absence de recombinaison génétique :

- **Asque post-réduit (PR)** : dans ce type d'asque, les spores ne subissent pas de recombinaison et sont identiques aux spores parentales. La fréquence de ces asques est un indicateur de la proximité des gènes sur le même chromosome.
- **Asque pré-réduit (PR)** : lorsqu'un caractère est pré-réduit, la transmission des allèles se fait de manière indépendante, sans recombinaison, et ces asques sont également principalement parentaux.

2. Transmission de deux caractères

Lors de l'étude de la transmission de deux caractères simultanément, la distance entre les gènes peut être estimée par l'observation des différents types d'asques produits lors des croisements. En fonction de la fréquence des différents types d'asques — Ditypes Parentaux (DP), Ditypes Recombines (DR), et Tétratypes (TT) — il est possible de déterminer si les gènes sont indépendants ou s'ils sont liés, ainsi que leur proximité.

- **Ditypes Parentaux (DP)** : Asques contenant uniquement les spores parentales.
- **Ditypes Recombines (DR)** : Asques contenant uniquement des spores recombinées.

- **Tétratypes (TT)** : Asques qui contiennent à la fois des spores parentales et recombinées, permettant de détecter un mélange de transmission des caractères.

Les fréquences de chaque type d'asque sont essentielles pour calculer la distance entre les gènes. Si les gènes sont liés, les tétratypes apparaîtront moins fréquemment, indiquant une faible recombinaison, et la distance génétique sera plus courte.

3. Calcul de la distance entre les gènes

La distance entre deux gènes, exprimée en unités de morgan (m.u.), est calculée à partir des fréquences de recombinaison observées dans les croisements entre souches. La formule de base utilisée pour estimer cette distance est la suivante :

$$\text{Distance (m.u.)} = (21 \times \text{TT} + \text{DR}) \div \text{Total des asques} \times 100$$

- **DR** : Fréquence des Ditypes Recombines
- **TT** : Fréquence des Tétratypes

La distance entre les gènes peut être interprétée en fonction des valeurs obtenues pour DR et TT. Si les fréquences sont faibles, les gènes sont proches et donc fortement liés. En revanche, si les fréquences de recombinaison sont plus élevées, les gènes sont soit sur des chromosomes différents, soit éloignés sur le même chromosome.

4. Interprétation des résultats

La comparaison des types d'asques permet de conclure sur la nature de la relation entre les gènes :

- **Si DP = DR < TT** : Les gènes sont considérés comme liés et proches sur le même chromosome. Le faible nombre de tétratypes montre une recombinaison partielle entre les gènes.
- **Si DP = DR = TT** : Les gènes sont indépendants, soit en raison de leur localisation sur des chromosomes différents, soit de leur éloignement sur le même chromosome. Dans ce cas, la recombinaison se produit de manière aléatoire.

- **Si $DP \neq DR$ ($DP > DR$, TT modéré)** : Les gènes sont liés, mais l'un d'eux se trouve plus proche du centromère, ce qui influence la fréquence des recombinaisons observées. Une plus faible fréquence de tétratypes est observée, ce qui suggère une recombinaison partielle.

6 Complémentation et conversion génique chez la levure

La levure *Saccharomyces cerevisiae* est un modèle privilégié pour l'étude de la complémentation et de la conversion génique.

Complémentation :

La complémentation consiste à introduire un gène fonctionnel dans une souche mutante afin de restaurer le phénotype sauvage. Cette approche est largement utilisée pour identifier des gènes impliqués dans des voies métaboliques ou des processus cellulaires. Chez la levure, la complémentation est facilitée par la transformation génétique et l'utilisation de vecteurs plasmidiques intégratifs ou autonomes.

Conversion génique :

La levure est également un modèle d'étude de la conversion génique, un processus de recombinaison homologue non réciproque où une séquence d'ADN est remplacée par une autre. Ce phénomène est observé notamment lors de la méiose, contribuant à l'homogénéisation des séquences au sein des familles de gènes et jouant un rôle clé dans l'évolution du génome (Merino et al., 2008; Raven et al., 2020)

7 Génétique des mitochondries chez la levure

La levure est un organisme eucaryote modèle pour l'étude de la génétique mitochondriale. Contrairement au génome nucléaire, le génome mitochondrial (ADNmt) est circulaire et code pour des protéines impliquées dans la respiration et la production d'ATP. (Ling, F., Bradshaw, E., & Yoshida, M., 2019).

Caractéristiques du génome mitochondrial :

- Taille : environ 75-85 kb.
- Gènes codant pour des ARN ribosomiques, des ARN de transfert et des protéines des complexes respiratoires.
- Transmission majoritairement maternelle mais des cas de transmission biparentale ou paternelle peuvent être observés dans des conditions expérimentales spécifiques.

Particularités génétiques :

- Présence fréquente de mutations spontanées conduisant à des phénotypes « petites colonies » (petites, ou ρ^- , ρ^0).
- Taux élevé de recombinaison intramoléculaire.
- Le système de réparation de l'ADN mitochondrial est distinct de celui du noyau, expliquant sa susceptibilité aux mutations.

La levure est également un modèle pour étudier les interactions entre les génomes nucléaire et mitochondrial, notamment dans le contrôle de la biogenèse et du fonctionnement des mitochondries Seel, (C., et al. 2023).

Exercice 1 – Analyse d'un croisement chez *Saccharomyces cerevisiae*

Une souche de levure haploïde A est auxotrophe pour la méthionine (*met-*), et une souche haploïde B est auxotrophe pour l'adénine (*ade-*). On réalise un croisement entre A et B, puis une dissection de tétrade.

Questions :

1. Quel type de cycle de vie observe-t-on chez *S. cerevisiae* ?
2. Combien de spores contient une tétrade complète ?
3. Si l'on observe une ségrégation 2:2 des phénotypes (2 colonies *met-*, 2 *ade-*), que peut-on conclure sur la distance entre les deux gènes ?

4. Que signifie une dissection avec 4 spores viables ayant les phénotypes suivants :
- | | | | | | |
|---|-------|---|---|-------------------------|-------------------------|
| – | Spore | 1 | : | <i>MET</i> ⁺ | <i>ADE</i> ⁺ |
| – | Spore | 2 | : | <i>MET</i> ⁺ | <i>ade</i> ⁻ |
| – | Spore | 3 | : | <i>met</i> ⁻ | <i>ADE</i> ⁺ |
| – | Spore | 4 | : | <i>met</i> ⁻ | <i>ade</i> ⁻ |
- Quel est le type de ségrégation observé ?

Corrigés

Exercice 1 – Analyse d'un croisement

1. *S. cerevisiae* est un champignon unicellulaire avec un cycle haplo-diploïde : alternance entre cellules haploïdes (*a/α*) et un zygote diploïde issu de la conjugaison.
2. Une tétrade complète contient 4 spores haploïdes.
3. Une ségrégation 2:2 indique absence de crossing-over entre les deux gènes, ou qu'ils sont non liés (ségrégation indépendante).
4. Ce schéma indique une ségrégation indépendante : 1/4 des spores sont de chaque combinaison phénotypique. Cela reflète une ségrégation mendélienne classique, donc les deux gènes sont non liés.

Chapitre : les archées

Partie 3 : Les Archées

Objectif :

Découvrir la diversité génétique des archées, leur organisation génomique, leurs mécanismes de régulation, et leur importance évolutive comme groupe intermédiaire entre bactéries et eucaryotes.

1 Les archées

1.1 Généralités

Jusqu'à la fin des années 1970, les biologistes classaient l'ensemble des organismes vivants en deux grands groupes :

Les procaryotes, qui regroupaient les bactéries, organismes unicellulaires dépourvus de noyau, et les eucaryotes, dont les cellules possèdent un noyau et des organites compartimentés, englobant ainsi les animaux, les plantes, les champignons et les protistes.

Cette classification bipartite, bien qu'utile, reposait essentiellement sur des critères morphologiques et structuraux. Elle ne permettait pas de refléter fidèlement les relations évolutives profondes entre les différents groupes d'organismes.

En 1977, une avancée majeure fut réalisée par Carl Woese, microbiologiste américain, qui bouleversa cette vision du vivant. Grâce à l'analyse des séquences d'ARN ribosomique (ARNr), en particulier le 16S chez les procaryotes et le 18S chez les eucaryotes, Woese développa une approche moléculaire innovante permettant de retracer l'histoire évolutive des êtres vivants sur des bases génétiques. L'ARN ribosomique, molécule hautement conservée présente chez tous les organismes cellulaires, s'est révélée être un excellent marqueur phylogénétique. (Woese et al., 1975; Woese and Fox, 1977).

En comparant ces séquences, Woese mit en évidence l'existence d'un groupe d'organismes jusqu'alors inconnu, distinct à la fois des bactéries et des eucaryotes : les Archées (*Archaea*). Cette découverte a conduit à une refonte complète de la classification du vivant et à l'émergence du modèle des trois domaines : Bactéries, Archées et Eucaryotes.

Les archées présentent des caractéristiques particulières qui les distinguent des bactéries, malgré leur apparence cellulaire similaire. Elles possèdent notamment des particularités au niveau de leur membrane, de la composition de leurs parois cellulaires et de leur machinerie génétique. D'abord découvertes dans des environnements extrêmes — tels que les sources hydrothermales, les lacs hypersalés, les milieux acides ou les zones anaérobies profondes — les archées sont aujourd'hui reconnues comme étant ubiquitaires. On les retrouve également dans des milieux plus tempérés, y compris dans le tube digestif des animaux, y compris l'être humain, où elles jouent un rôle actif dans la digestion, en particulier dans la production de méthane.

La découverte des archées a donc ouvert un nouveau champ de recherche en microbiologie et en biologie évolutive. Elle constitue une étape fondamentale dans la compréhension de la diversité du vivant et de ses origines. Ce cours est consacré à l'étude de ces organismes fascinants, longtemps restés méconnus, et qui représentent une branche à part entière du vivant.

1.2 Diversité, écologie et évolution des archées

1. Organisation générale : une structure procaryote

Sur le plan morphologique, les archées présentent les caractéristiques typiques des cellules procaryotes. Elles ne possèdent ni noyau ni organites membranaires, et leur taille est généralement comprise entre 0,1 et 5 micromètres. Leurs chromosomes sont circulaires, avec une taille moyenne de 2 à 3 mégabases, et les gènes y sont organisés en opérons, tout comme chez les bactéries.

L'organisation cellulaire des archées évoque donc fortement celle des bactéries, suggérant une proximité évolutive apparente. Toutefois, cette similarité structurelle masque une complexité moléculaire qui distingue profondément les archées des autres procaryotes.

2. Des systèmes moléculaires à la croisée des chemins entre bactéries et eucaryotes

a. Des systèmes informationnels proches des eucaryotes

Bien que leur apparence rappelle celle des bactéries, les archées partagent avec les eucaryotes plusieurs mécanismes fondamentaux. Les processus majeurs de réplication de l'ADN, de transcription, de traduction et de réparation sont assurés par des enzymes codées par des gènes

orthologues à ceux retrouvés chez les eucaryotes. Ces gènes, souvent très conservés, traduisent une parenté évolutive inattendue entre archées et eucaryotes.

Par ailleurs, les archées utilisent pour la compaction de leur ADN des protéines homologues aux histones eucaryotes, ce qui les distingue des bactéries, qui n'en possèdent pas. Cette caractéristique renforce l'idée selon laquelle les archées occupent une position intermédiaire sur le plan évolutif entre les bactéries et les eucaryotes, notamment pour les processus liés à l'expression et à la stabilité du génome.

b. Des fonctions métaboliques apparentées aux bactéries

En revanche, les protéines impliquées dans les fonctions dites « opérationnelles », telles que les voies métaboliques de base, la biosynthèse des acides aminés ou la production d'énergie, sont plus proches, d'un point de vue évolutif, de celles observées chez les bactéries. Cette dualité fonctionnelle — informationnelle eucaryote et métabolique bactérienne — illustre bien la nature singulière des archées.

3. Un système immunitaire adaptatif : les séquences CRISPR-Cas

Comme certaines bactéries, les archées possèdent un système d'immunité adaptative basé sur les séquences CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) et les gènes cas (CRISPR-associated genes). Ce système leur permet de se défendre contre les éléments génétiques étrangers, tels que les virus, en intégrant dans leur génome des fragments d'ADN viral précédemment rencontrés. Ces fragments servent ensuite de matrice pour reconnaître et neutraliser de futures infections similaires.

L'existence de ce mécanisme, aujourd'hui largement exploité en biotechnologie, témoigne de l'ingéniosité des systèmes de défense moléculaire développés par les archées et souligne leur capacité d'adaptation dans des environnements souvent hostiles.

4. Une membrane cellulaire chimiquement unique

L'un des éléments les plus distinctifs des archées réside dans la composition chimique de leur membrane plasmique. Contrairement aux bactéries et aux eucaryotes, dont les membranes sont constituées de phospholipides formés d'acides gras liés au glycérol-3-phosphate par des liaisons esters, les archées possèdent des membranes formées de longues chaînes d'alcools isopréniques, attachées au glycérol-1-phosphate par des liaisons éther.

Cette particularité confère à la membrane archéenne une stabilité chimique nettement supérieure, notamment en conditions extrêmes. De plus, chez plusieurs archées, la membrane lipidique peut se présenter sous forme de monocouche continue, constituée de tétraéthers lipidiques. Ces tétraéthers forment une structure rigide, dans laquelle deux têtes polaires sont reliées par des chaînes alkyles continues, ce qui accroît la résistance thermique et mécanique de la membrane.

Ces adaptations expliquent la capacité remarquable des archées à survivre dans des environnements extrêmes, tels que les sources hydrothermales, les milieux hypersalins, les environnements très acides ou anoxiques.

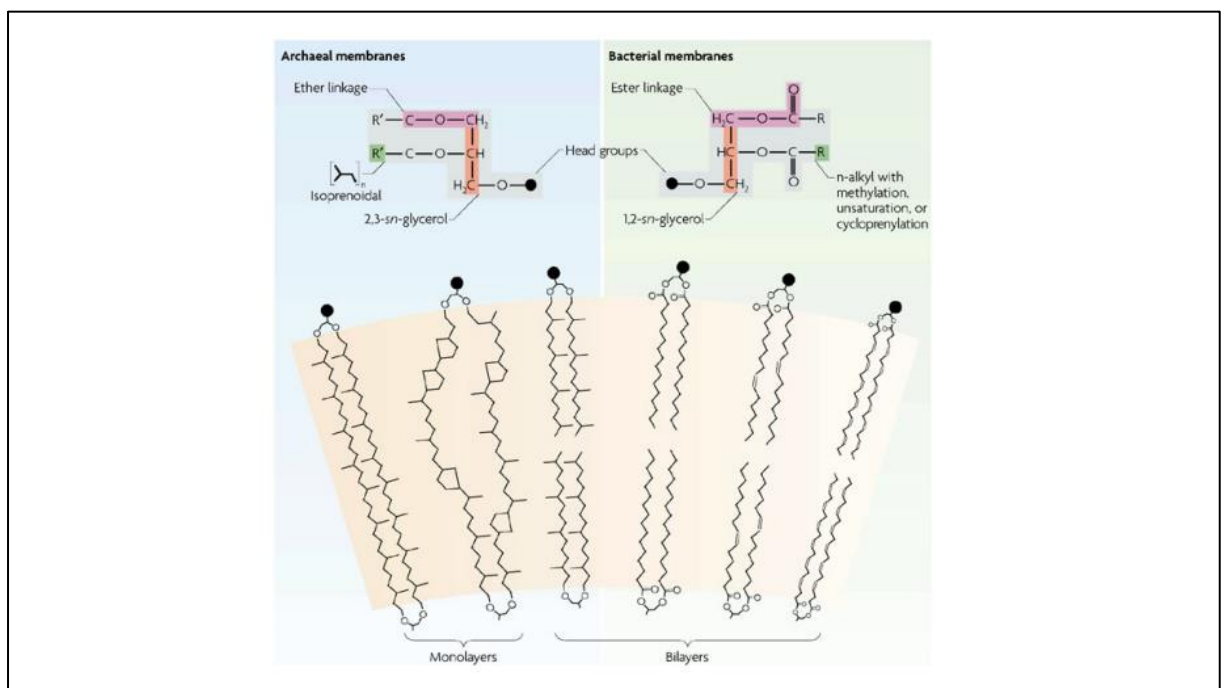


Figure 33: Comparaison de la structure des membranes cellulaires chez les archées et les bactéries

Comparaison des membranes : bactéries possèdent des lipides avec liaisons **ester** glycérol-acides gras, archées des lipides avec liaisons **éther** glycérol-chaînes isoprénoïdes, assurant plus de stabilité. d'après Valentine (2007).

5. Une paroi cellulaire sans peptidoglycane

À la différence des bactéries, qui possèdent généralement une paroi cellulaire riche en peptidoglycane, la majorité des archées en est dépourvue. Certaines espèces méthanogènes constituent une exception à cette règle, car elles produisent un polymère analogue appelé pseudopeptidoglycane (ou pseudomuréine), structurellement similaire mais biochimiquement distinct.

Chez la plupart des archées, la paroi cellulaire est remplacée par une structure appelée **S-layer** (Surface layer), formée de protéines ou de glycoprotéines organisées en réseau cristallin. Bien que le S-layer ne soit pas exclusif aux archées — certaines bactéries en possèdent également — il est considéré comme un composant quasi universel de l’enveloppe cellulaire archéenne. Ce revêtement joue un rôle essentiel dans la protection mécanique, la reconnaissance moléculaire et parfois dans l’ancrage à des surfaces.

	ARCHAEA	BACTERIA	EUKARYA
Taille	1-4µm	1-4µm	> 5µm
Matériel génétique	Chromosome circulaire	Chromosome circulaire	Plusieurs chromosomes linéaires
Organelles	Non	Non	Oui
Noyau	Non	Non	Oui
Système CRISPR	Oui	Oui	Non
Liaison des lipides	Ether	Ester	Ester
Chaînes carbonées	Isoprènes	Acides gras	Acides gras
Tête phosphate	L-glycérol-1-phosphate	D-glycérol-3-phosphate	D-glycérol-3-phosphate
Réplication/transcription/traduction	Type eucaryote	Bactérien	Eucaryote
ARN polymérase	1 type, 13 sous-unités	1 type, 4 sous-unités	5 types, 12 sous-unités
Régulation de la transcription	Type bactérien	Bactérien	Eucaryote
Histones	Oui	Non	Oui
ARNr	5S, 16S, 23S	5S, 16S, 23S	5S, 8S, 18S, 28S
Synthèse des protéines	Ribosome 70S	Ribosome 70S	Ribosome 70S et 80S
Pathogène pour l'homme	Non	Oui	Oui

Tableau 1 comparatif des membranes et caractéristiques cellulaires des bactéries, archées et eucaryotes. Les archées possèdent des lipides membranaires liés par des liaisons éther, contrairement aux ester des bactéries et eucaryotes. La paroi bactérienne contient du peptidoglycane, absent chez les archées. L’organisation génétique et la machinerie transcriptionnelle montrent des similitudes entre archées et eucaryotes. d’après Cavicchioli (2010).

Diversité des archées

Les archées sont aujourd’hui classées en plusieurs embranchements (ou phylums), eux-mêmes subdivisés en classes, ordres, familles, genres et espèces. Parmi les phylums décrits à ce jour, trois groupes majeurs sont particulièrement bien étudiés et représentatifs de cette diversité : Euryarchaeota, Crenarchaeota et Thaumarchaeota.

3.1. Euryarchaeota : une diversité métabolique exceptionnelle

Le phylum Euryarchaeota regroupe une grande variété d'archées capables de coloniser des habitats extrêmes tels que :

- les sources hydrothermales profondes,
- les lacs hypersalés,
- les sédiments anoxiques (dépourvus d'oxygène),
- mais aussi des milieux plus tempérés, en association avec d'autres organismes.

Ce groupe comprend notamment :

- les archées méthanogènes, capables de produire du méthane (CH_4) comme produit final de leur métabolisme anaérobie. Ces organismes jouent un rôle écologique majeur dans le cycle du carbone, notamment dans les rizières, les marais, le rumen des ruminants, et même dans les intestins humains.
- des archées halophiles extrêmes, qui tolèrent, voire nécessitent, des concentrations très élevées en chlorure de sodium pour leur survie.
- des archées thermoacidophiles, adaptables à des températures élevées et des pH acides, vivant dans des environnements volcaniques ou hydrothermaux.

Certaines espèces de ce groupe peuvent également entretenir des relations symbiotiques ou parasitaires avec d'autres microorganismes, soulignant la complexité des interactions biologiques dans les milieux extrêmes.

3.2. Crenarchaeota : spécialistes des environnements extrêmes

Longtemps considérées comme strictement thermophiles, les Crenarchaeota ont été initialement isolées dans des sources chaudes, des fumerolles volcaniques et des milieux très acides. Leur métabolisme est extrêmement varié :

- Certaines espèces utilisent le soufre ou l'hydrogène comme donneurs ou accepteurs d'électrons.
- D'autres sont capables de métaboliser des composés organiques complexes, ou même de fixer le carbone par des voies originales.

On les retrouve également dans des écosystèmes marins profonds, ce qui démontre leur capacité d'adaptation bien au-delà des milieux chauds. Aujourd'hui, on sait que des Crenarchaeota sont aussi présentes dans les sols tempérés et les eaux froides, remettant en question leur classification ancienne en tant que stricts extrémophiles. (Brochier-Armanet et al., 2008).

3.3. Thaumarchaeota : acteurs clés du cycle de l'azote

Le phylum Thaumarchaeota, décrit plus récemment, regroupe des archées longtemps classées parmi les Crenarchaeota, jusqu'à ce que des données de génomique comparative révèlent leurs spécificités phylogénétiques. Elles sont omniprésentes dans les sols, les océans et les environnements aquatiques doux, formant parfois une part importante du microbiome environnemental.

Leur contribution principale réside dans leur capacité à oxyder l'ammoniac (NH_3) en nitrite (NO_2^-), un processus clé dans la nitrification, première étape du cycle de l'azote. À ce titre, les Thaumarchaeota jouent un rôle écologique majeur en participant à la régulation des nutriments dans les écosystèmes naturels et agricoles.

Certaines espèces sont même capables de croître à très basse énergie, ce qui leur permet de coloniser des milieux pauvres en nutriments, y compris les profondeurs océaniques ou les sols arctiques. (Brochier-Armanet et al., 2008; Spang et al., 2010).

1.3 Génétique des archées

Réplication de l'ADN chez les archées

4.1. Origine de réplication

Les mécanismes de réplication de l'ADN sont cruciaux pour la reproduction cellulaire et la transmission fidèle de l'information génétique. Chez les eucaryotes, la réplication commence à partir de multiples origines de réplication sur des chromosomes linéaires. À l'inverse, les bactéries possèdent une origine unique, localisée sur leur chromosome circulaire.

Les archées présentent un modèle hybride entre les eucaryotes et les bactéries. Bien que leur chromosome soit circulaire comme celui des bactéries, le nombre d'origines de réplication peut varier d'une espèce à l'autre. Certaines archées, comme *Pyrococcusabyssi*, ne possèdent qu'une

seule origine de réplication, tandis que d'autres, comme *Halobacteriumvolcanii*, en possèdent plusieurs (trois dans ce cas). Cette diversité suggère que les archées ont évolué pour s'adapter à des exigences variées en matière de réplication de l'ADN, en fonction de leurs environnements et de leurs modes de vie.

Phylum	Organism	No. of replication origin
Euryarcheota	<i>Pyrococcus abyssi</i>	1
	<i>Haloferax volcanii</i>	3
	<i>Haloferax mediterranei</i>	2
	<i>Archaeoglobus fulgibus</i>	1
	<i>Halobacterium</i> sp. NRC1	4
	<i>Haloarcula hispanica</i>	2
	<i>Methanothermobacter thermoautotrophicus</i>	1
Crenarcheota	<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	3
	<i>Sulfolobus solfataricus</i>	3
	<i>Sulfolobus islandicus</i>	3
	<i>Pyrobaculum calidifontis</i>	4
	<i>Aeropyrum pernix</i>	At least 2
Thaumarcheota	<i>Nitrosopumilus maritimus</i>	1

Tableau 2 : aperçu du nombre d'origines de réplication retrouvées chez les différentes familles d'archées, selon Lestini et al, 2015 (Lestini, Delpech, and Myllykallio 2015)

L'initiation de la réplication chez les archées débute à une séquence spécifique, appelée origine de réplication. Cette séquence, généralement située dans une région intergénique riche en A-T, est encadrée par des motifs répétés de Origin Recognition Boxes (ORB), qui jouent un rôle crucial dans la reconnaissance de l'origine. Les ORB sont des séquences de 15 à 20 nucléotides, reconnues par des protéines spécialisées appelées protéines de reconnaissance des origines (ORBPs), qui initient la séparation des deux brins d'ADN. (Liman, McTeer, & Bell, 2025).

4.2. Initiation de la réplication

Le premier événement de l'initiation de la réplication chez les archées est la reconnaissance des séquences ORB par des protéines de type Orc1/Cdc6 (Origin Recognition Complex / Cell Division Cycle), qui sont des orthologues des protéines eucaryotes. Ces protéines, en combinaison avec d'autres protéines initiatrices comme les Whip (Winged Helix

InitiatorProteins), ont pour rôle de séparer localement les deux brins d'ADN grâce à leur activité ATPasique. Ce processus génère l'œil de réplication, une structure cruciale pour le bon déroulement de la réplication.

Une fois que l'œil de réplication est formé, des protéines hélicases réplcatives, comme la protéine MCM (Mini-Chromosome Maintenance), sont recrutées pour dérouler l'ADN et préparer les brins à la synthèse. La réplication de l'ADN est bidirectionnelle, ce qui signifie que deux hélicases sont chargées à chaque origine, formant ainsi le complexe de pré-réplication et initiant la réplication dans les deux directions.

Des facteurs de réplication supplémentaires, tels que le complexe GINS et la protéine Cdc45, sont nécessaires pour stabiliser et coordonner la réplication dans ces régions d'origine. De plus, les protéines SSB (Single-Strand Binding Proteins), telles que les protéines RPA (ReplicationProtein A), se lient aux brins d'ADN simples pour éviter leur ré-association prématurée et assurer une progression stable de la réplication. (Zatopek, Gardner, and Kelman 2018).

4.3. Élongation de l'ADN

L'élongation de l'ADN démarre une fois que les amorces ARN, synthétisées par la primase composée des sous-unités PriS et PriL, sont en place. Ces amorces permettent à la DNA polymérase de commencer la synthèse des nouveaux brins d'ADN. Il est important de noter que la synthèse des brins de l'ADN se fait de manière asymétrique :

- Le brin leader est synthétisé de manière continue dans la direction de la fourche de réplication.
- Le brin tardif, en revanche, est synthétisé de manière discontinue sous forme de fragments d'Okazaki, qui sont ensuite reliés entre eux pour former un brin continu.

Chez les archées, les polymérases PolB et PolB/D sont responsables de la synthèse des brins leader et tardif respectivement. Lorsque des fragments d'Okazaki sont formés, des protéines comme la RNase HII et l'endonuclease FEN1 interviennent pour dégrader les hybridesARN/ADN. Ensuite, l'ADN **ligase I** relie les fragments d'Okazaki, permettant la formation d'un brin néosynthétisé continu.

4.4. Terminaison de la réplication

La terminaison de la réplication se produit lorsque les deux fourches de réplication se rencontrent. Dans les bactéries, cette rencontre se fait à une région terminale spécifique du chromosome, souvent appelée site de terminaison. Cependant, chez les archées, aucune région terminale n'a été clairement identifiée. Il semble que la réplication se termine de manière aléatoire à l'endroit où les deux fourches se rencontrent, un phénomène semblable à ce qui se passe chez les eucaryotes.

Après la rencontre des fourches, la machinerie de réplication se dissocie de l'ADN, et les deux brins d'ADN nouvellement synthétisés sont séparés pour compléter le processus.

Il est important de noter que les mécanismes précis de la réplication de l'ADN chez les archées peuvent varier en fonction de l'espèce et des systèmes impliqués. Bien que de nombreuses étapes de la réplication archéenne soient bien comprises, des détails subsistent, notamment en ce qui concerne la régulation fine de la réplication et la manière dont ces processus peuvent être modulés par l'environnement ou les stress cellulaires.

Les mécanismes de régulation de la réplication, ainsi que les interactions complexes entre les protéines impliquées, restent des domaines de recherche active. Ces études pourraient non seulement éclairer les aspects fondamentaux de la biologie des archées mais aussi fournir des informations sur des cibles thérapeutiques potentielles pour la lutte contre certaines infections causées par des archées pathogènes. (Zatopek, Gardner, and Kelman 2018).

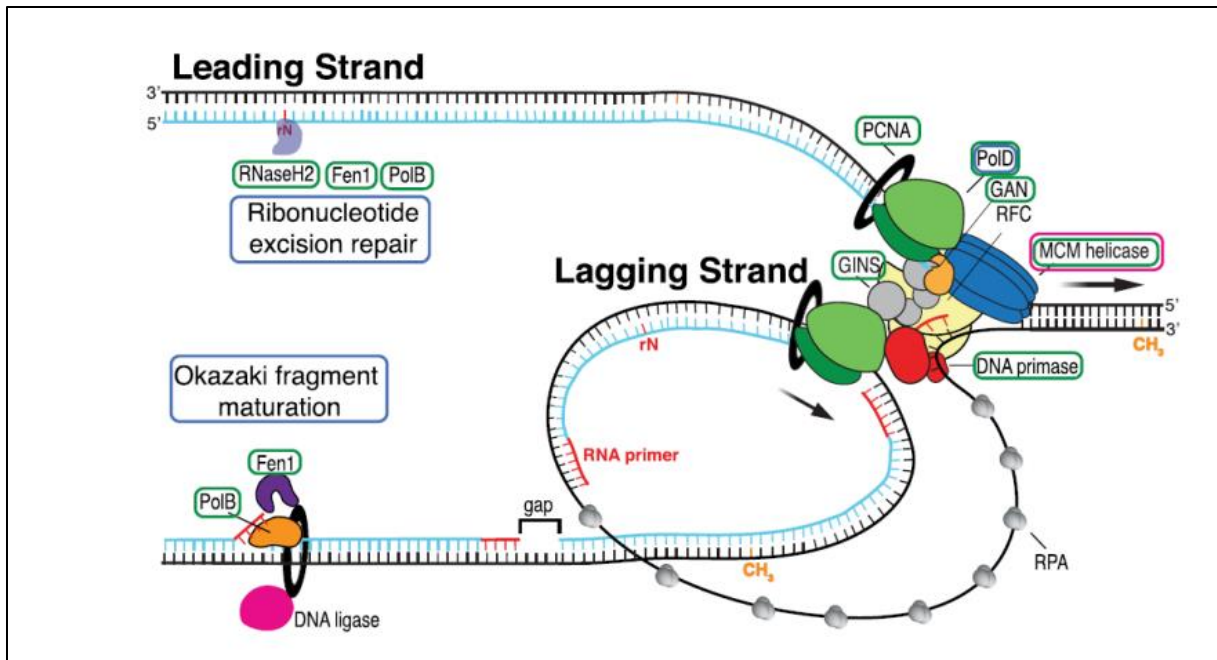


Figure 34: fourche de répliation archéenne selon Zatopek (Zatopek, Gardner, and Kelman 2018)

Attribute	Bacteria	Eukarya	Archaea	
			Euryarchaea	Crenarchaea
Chromosome	Circular	Linear	Circular	Circular
Replication origin	Single	Multiple	Single or Multiple	Single or Multiple
Prereplication complex (pre-RC)				
Origin recognition	DnaA	ORC	Cdc6 ^e	Cdc6 WhiP
Helicase	DnaB	MCM	MCM	MCM
Helicase loader	DnaC	Cdc6 Cdt1	Cdc6	Cdc6
Preinitiation complex (pre-IC)				
Cdc45	-	Cdc45	Cdc45	Cdc45
GINS	-	GINS	GINS	GINS
Single-stranded DNA binding protein (SSB)	SSB	RPA	RPA	SSB
Elongation complex				
Primase	DnaG	Pol α /primase	Primase	Primase
Sliding clamp	β -subunit	PCNA	PCNA	PCNA
Clamp loader	r-complex	RFC	RFC	RFC
DNA polymerase	PolC	PolB	PolB/PolD	PolB
Okazaki fragment maturation				
Primer removal	PolI	Fen1	Fen1	Fen1
Gap filling	PolI	PolB	PolB/PolD	PolB
DNA ligase	NAD ⁺ -dependent	ATP-dependent	ATP-dependent	ATP-dependent

Tableau 3 résumé des enzymes impliquées dans la répliation (kelman 2014)

Réparation de l'ADN chez les archées

Les archées possèdent des systèmes de réparation de l'ADN adaptés à leurs conditions de vie extrêmes. Leur mécanisme de réparation est similaire à celui des eucaryotes et des bactéries, mais présente des spécificités en raison de leur génome et de leurs environnements particuliers, comme les sources hydrothermales ou les milieux salins. La réparation de l'ADN chez les archées est essentielle pour maintenir la stabilité génétique dans des conditions où l'ADN est soumis à des stress environnementaux importants.

Réparation des cassures double-brin (DSB)

La réparation des cassures double-brin est un processus critique pour la stabilité du génome. Chez les archées, cette réparation se fait principalement par recombinaison homologue, similaire à celle observée chez les eucaryotes. Les protéines de recombinaison, telles que Rad51 et RecA, sont impliquées dans la recherche de séquences homologues pour réparer la cassure. Ces protéines facilitent l'échange de brins d'ADN et permettent la réparation en utilisant un brin intact comme modèle. Cette voie de réparation est particulièrement importante dans les environnements où l'ADN est exposé à des niveaux élevés de stress, notamment thermique et oxydatif.

Les archées thermophiles, vivant à des températures élevées, ont développé des versions spécifiques de Rad51 et RecA, adaptées à leur fonctionnement à haute température. Ces protéines thermophiles ont une meilleure stabilité et sont plus efficaces sous des conditions extrêmes.

Réparation des dommages causés par l'oxydation

Les archées vivant dans des environnements extrêmes, tels que les milieux riches en radicaux libres ou les conditions de haute température, sont particulièrement exposées à des dommages oxydatifs. Pour contrer cela, elles possèdent des mécanismes spécifiques de réparation des bases endommagées, notamment la réparation par excision de base (BER).

Les protéines impliquées dans ce processus incluent des glycosylases, qui reconnaissent et retirent les bases oxydées ou modifiées. Après l'excision, une ADN polymérase synthétise la base correcte, et l'ADN est ligaturé par une ADN ligase. Ce processus est crucial pour maintenir l'intégrité de l'ADN dans les environnements à haute température où les radicaux libres sont générés en grande quantité.

Réparation des erreurs de réplication

Les erreurs de réplication de l'ADN sont courantes et peuvent provoquer des mutations si elles ne sont pas réparées. Chez les archées, le système de réparation des mésappariements (MMR) est similaire à celui des eucaryotes. Il repose sur les protéines MutS et MutL, qui reconnaissent et corrigent les mésappariements de bases qui surviennent lors de la réplication.

Les protéines MutS identifient les erreurs de réplication, tandis que MutL coordonne la réparation en excisant le brin erroné et en le remplaçant par le brin correct. Ce système est particulièrement important pour maintenir la fidélité de l'ADN dans des conditions de réplication rapide, telles que celles rencontrées dans les environnements extrêmes où les archées évoluent.

Réparation des dommages par UV et chaleur

Certaines archées, notamment celles vivant dans des environnements thermophiles ou exposées aux rayons UV, doivent faire face à des lésions de l'ADN causées par les radiations. Ces lésions, telles que les dimères de thymine, sont réparées par un mécanisme de réparation par excision de nucléotides (NER). Ce mécanisme consiste en l'excision d'un segment endommagé d'ADN et en sa substitution par un nouveau fragment synthétisé.

Dans les conditions extrêmes de chaleur ou de radiation, les archées possèdent des enzymes de réparation thermophiles capables de fonctionner efficacement même à des températures élevées. Ces enzymes comprennent des nucléases spécialisées qui excisent les dimères de thymine et des ADN polymérase thermophiles qui synthétisent le brin complémentaire.

Adaptation des archées aux environnements extrêmes

Les archées qui évoluent dans des conditions extrêmes, telles que les sources hydrothermales ou les milieux salins, ont développé des adaptations uniques dans leurs mécanismes de réparation de l'ADN. Par exemple, certaines archées possèdent des protéines de réparation spécifiques qui assurent la réparation de l'ADN endommagé par la chaleur, le stress oxydatif, ou les radiations.

Ces protéines thermophiles, comme les ADN polymérase thermophiles et les protéines de recombinaison adaptées, jouent un rôle crucial dans la réparation de l'ADN et la maintenance de la stabilité génétique, même dans des conditions de température et de pression extrêmes. Les systèmes de réparation de l'ADN chez les archées sont donc hautement spécialisés pour répondre à des défis uniques dans des environnements extrêmes.

Transcription chez les archées

Découverte et caractérisation précoce

Les premières études ayant permis de mieux comprendre la transcription chez les archées remontent aux travaux pionniers de B.G. Louis et P.S. Fitt (1971) sur *Halobacteriumcutirubrum*, une archée halophile extrême. Quelques années plus tard, en 1978, W. Zillig et C. Stetter poursuivent ces recherches sur *Halobacteriumhalobium*, ce qui a permis l'isolement et l'analyse biochimique de l'ARN polymérase (ARNP) archéenne.

Ces premières observations ont révélé une enzyme de transcription dont les caractéristiques — notamment le poids moléculaire et le nombre de sous-unités — différaient de celles des ARNP bactériennes. (Benelli&Londei, 2011).

Structure de l'ARN polymérase archéenne

La compréhension fine de l'ARNP archéenne a été rendue possible grâce à la cristallisation et la résolution structurale de l'enzyme isolée de *Sulfolobussolfataricus* et *Sulfolobusshibatae* entre 2008 et 2009. Ces travaux (Kusser et al., 2007 ; Hirata et al., 2008 ; Korkhin et al., 2009) ont confirmé que l'ARN polymérase des archées est composée de treize sous-unités, désignées Rpo1 à Rpo13. Cette composition la rapproche fortement de l'ARN polymérase II (ARNPII) des eucaryotes, avec laquelle elle partage une organisation structurale conservée.

À titre de comparaison :

- Les sous-unités des ARNP archéennes sont nommées Rpo (RNA polymerase) + numéro.
- L'ARNPII eucaryote utilise le préfixe RPB suivi de la même numérotation.
- Les ARNP bactériennes sont plus simples, avec les sous-unités α , β , β' , et ω .

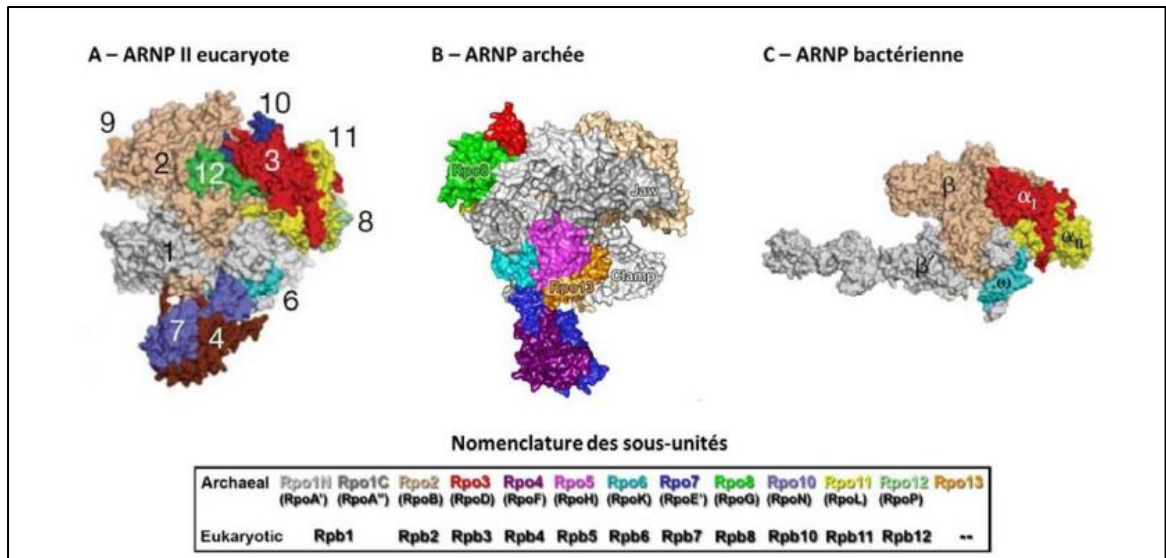


Figure 35: structure des ARN polymérase-ADN dépendantes à sous unités multiples. (Shin et al. ;2021)

A) *Sacharomyces cerevisiae*, B) *Sulfolobus shibatae*, C) *Thermus aquaticus*.

Facteurs généraux de transcription

Les archées utilisent, comme les eucaryotes, plusieurs facteurs généraux pour initier la transcription, bien que leur machinerie soit plus simple que celle des eucaryotes. Alors que les bactéries se contentent du facteur σ pour initier la transcription et que l'ARNPII des eucaryotes requiert au moins six facteurs (TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIE, TFIIF, TFIIH) en plus d'un complexe médiateur, les archées n'ont besoin que de trois facteurs principaux :

- **TBP** (TATA-binding protein), qui se lie à la TATA-box et induit une courbure de l'ADN.
- **TFB** (Transcription Factor B), qui reconnaît la boîte BRE adjacente à la TATA-box et recrute l'ARNP via son domaine N-terminal.
- **TFE** (Transcription Factor E), qui stabilise la formation du complexe d'initiation ouvert.

Promoteurs archéens

Les promoteurs des archées contiennent une TATA-box riche en A-T, localisée entre 25 et 30 paires de bases en amont du site d'initiation de la transcription. À proximité immédiate se trouve l'élément BRE (B recognition element), qui est reconnu par TFB.

Cette organisation est très proche de celle retrouvée chez les eucaryotes, renforçant l'idée que la machinerie transcriptionnelle des archées constitue un intermédiaire évolutif entre les bactéries et les eucaryotes.

Déroulement de la transcription

Initiation

L'initiation repose sur l'assemblage du complexe de pré-initiation au niveau du promoteur. TBP se fixe à la TATA-box et provoque une courbure locale de l'ADN. TFB interagit ensuite avec ce complexe, grâce à son domaine C-terminal qui reconnaît BRE. Il recrute et oriente l'ARN polymérase via son domaine N-terminal.

L'ouverture de l'ADN autour du site d'initiation permet la formation du complexe « ouvert », stabilisé par TFE, qui facilite l'insertion du brin matrice dans le site catalytique de l'ARNP.

Élongation

L'ARNP commence la synthèse de l'ARN en utilisant le brin matrice d'ADN. Au cours de cette phase, plusieurs facteurs d'élongation interviennent, notamment :

- **TFS**, un homologue du facteur eucaryote TFIIS, qui participe à la correction d'erreurs transcriptionnelles.
- **Spt4/5**, un complexe conservé entre archées et eucaryotes, qui module la vitesse d'élongation et contribue à la stabilité de l'ARNm en formation.

Ces facteurs permettent également d'assurer la continuité de la transcription à travers des régions génomiques structurées ou en présence d'obstacles.

Terminaison

La terminaison de la transcription chez les archées reste partiellement élucidée. Il semble que, comme chez les eucaryotes, l'ARN polymérase s'arrête suite à la rencontre de signaux de terminaison constitués de courtes séquences poly-dA sur le brin matrice. Ces séquences sont reconnues directement par l'ARNP et provoquent sa dissociation.

Régulation de la transcription

La régulation transcriptionnelle chez les archées est encore un champ de recherche actif, mais plusieurs principes généraux ont été établis.

Facteurs de régulation spécifiques

Les archées utilisent des régulateurs transcriptionnels analogues aux activateurs et répresseurs bactériens. Ces facteurs se lient à des séquences spécifiques en amont ou en aval des promoteurs pour moduler l'accessibilité de la machinerie transcriptionnelle.

- Certains régulateurs appartiennent à la famille des protéines Lrp (Leucine-responsive regulatory protein), qui agissent comme activateurs ou répresseurs selon les conditions environnementales.
- D'autres régulateurs sont sensibles à des signaux métaboliques comme la présence de nutriments, le stress oxydatif, la température ou la salinité.

Organisation opéronique

De nombreux gènes archéens sont organisés en opérons, comme chez les bactéries, permettant une régulation coordonnée de gènes fonctionnellement liés. Cela permet à un seul promoteur de contrôler l'expression de plusieurs gènes, facilitant la réponse rapide à un stimulus.

Régulation post-transcriptionnelle

Modifications post-transcriptionnelles des ARNm chez les archées

Absence de coiffe de type eucaryote

Contrairement aux eucaryotes, les archées ne possèdent pas de coiffe 7-méthylguanosine (m^7G) à l'extrémité 5' de leurs ARNm. Ce type de coiffe est une signature des ARN eucaryotes, impliquée dans la stabilité de l'ARN, l'export nucléaire, et le recrutement du ribosome.

Chez les archées :

- L'extrémité 5' des transcrits est généralement triphosphorylée, comme chez les bactéries.
- Aucune structure en coiffe m^7G n'a été observée à ce jour.
- Certaines études suggèrent l'existence de modifications de type pyrophosphate ou cofacteurs dérivés, mais elles restent rares et peu documentées.

Présence de queue poly(A)

Contrairement à ce qu'on pourrait attendre d'un organisme à transcription de type eucaryote, la queue poly(A) chez les archées est présente, mais elle n'a pas la même fonction protectrice que chez les eucaryotes.

- Chez les eucaryotes, la queue poly(A) stabilise l'ARNm et favorise sa traduction.
- Chez les archées, des études ont montré que la polyadénylation est un signal de dégradation, comme chez les bactéries.

Les enzymes responsables de cette modification sont des poly(A) polymérases homologues à celles des bactéries, et la queue poly(A) sert de marqueur pour les exonucléases, facilitant la dégradation des ARN vieillissants ou défectueux.

Autres particularités de la maturation de l'ARN

- Les archées ne possèdent pas d'introns dans leurs ARNm, à de rares exceptions près.
- Certaines espèces archéennes possèdent des ARN guides et des mécanismes de clivage comparables à ceux des systèmes CRISPR/Cas pour les ARN non codants, mais cela ne s'applique pas aux ARNm.
- Les ARN ribosomiques et de transfert subissent quant à eux des modifications complexes, parfois proches des eucaryotes (modifications des bases, pseudouridylation, méthylation...).

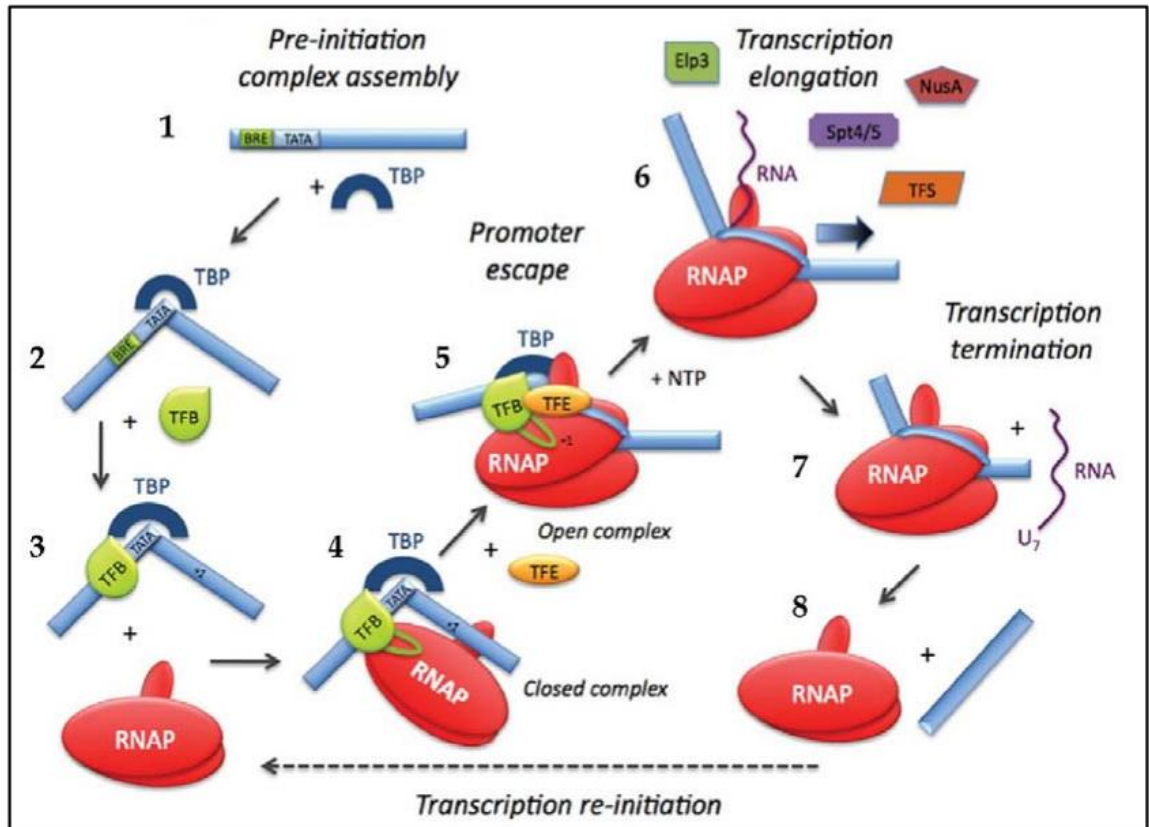


Figure 36: Mécanisme de transcription chez les archées.

La transcription archéenne débute par la fixation de TBP à la boîte TATA du promoteur, suivie du recrutement de TFB et de l'ARN polymérase. Le complexe ainsi formé initie la transcription, qui se poursuit par l'élongation de l'ARN puis sa terminaison. Ce processus combine des éléments propres aux bactéries et aux eucaryotes, reflétant la position évolutive intermédiaire des archées. (Porrua et al., 2016).

La traduction chez les Archées

1. Caractéristiques générales du ribosome archéen

Chez les Archées, le ribosome présente une taille globale de 70S, similaire à celui des Bactéries, et se compose de deux sous-unités :

- La grande sous-unité 50S, constituée des ARNr 23S et 5S,
- La petite sous-unité 30S, contenant l'ARNr 16S, accompagnés d'un ensemble de petites protéines ribosomiques.

Toutefois, au-delà de cette similarité apparente avec les procaryotes, les ribosomes archéens affichent une composition unique et intermédiaire entre bactéries et eucaryotes :

- Ils possèdent une protéine ribosomale spécifique aux Archées.
- Ils partagent 33 protéines ribosomiques uniquement avec les eucaryotes, absentes chez les Bactéries.
- À l'inverse, les bactéries possèdent 23 protéines exclusives non retrouvées chez les Archées ni chez les eucaryotes. (vanWolferen et al., 2022).

2. Données expérimentales limitées

Malgré l'intérêt croissant pour la biologie des Archées, les données expérimentales sur la traduction dans ce domaine restent limitées. Cela s'explique notamment par le retard du développement des outils de génétique moléculaire dans ce groupe d'organismes. En conséquence, la compréhension actuelle du mécanisme traductionnel repose largement sur des inférences issues des systèmes bactérien et eucaryote, par homologie. (Benelli&Londei, 2011)

3. Initiation de la traduction : un système hybride

La phase d'initiation de la traduction chez les Archées constitue un point de convergence unique entre les mécanismes retrouvés chez les Bactéries et ceux des Eucaryotes.

a. Organisation des ARNm

- Les ARNm archéens sont souvent polycistroniques, comme ceux des Bactéries.
- Ils ne possèdent pas de coiffe en 5' (contrairement aux eucaryotes).
- Une séquence Shine-Dalgarno (SD) est fréquemment observée en amont du codon AUG initiateur, facilitant l'appariement avec la séquence complémentaire de l'ARNr 16S de la petite sous-unité ribosomique.

Ce système suggère un mode de reconnaissance du codon start proche de celui des bactéries, basé sur l'appariement entre la séquence SD et le 16S.

b. Facteurs d'initiation

Malgré cette similarité structurelle avec les procaryotes, les facteurs protéiques impliqués dans l'initiation sont essentiellement homologues aux facteurs eucaryotiques. À ce jour, les principaux facteurs identifiés chez les Archées sont :

- aIF1,

- aIF1A,
 - aIF2 (complexe trimérique liant le GTP et la méthionine initiatrice),
 - aIF5B,
- qui sont tous apparentés à leurs homologues eucaryotes.

Ces facteurs permettent l'identification du codon start sur l'ARNm et le recrutement de l'ARNt initiateur, amorçant la formation du complexe d'initiation.

4. Couplage transcription-traduction

Les Archées, comme les Bactéries, ne possèdent pas de noyau. Par conséquent, un couplage spatio-temporel entre transcription et traduction est envisageable, permettant une synthèse protéique rapide directement à partir de l'ARNm en cours de transcription.

5. Élongation de la chaîne peptidique

La phase d'élongation chez les Archées repose également sur des facteurs apparentés à ceux des eucaryotes.

a. Mécanisme

- Un ARNt porteur d'un acide aminé entre dans le site A du ribosome.
- Il reconnaît le codon de l'ARNm via son anticodon, avec l'aide du facteur aEF1 (analogue de l'eEF1 α eucaryote).
- Une liaison peptidique est formée entre l'acide aminé nouvellement apporté et la chaîne peptidique croissante dans le site P.
- Le ribosome effectue ensuite une translocation de trois nucléotides, facilitée par le facteur aEF2, pour exposer le codon suivant.

6. Terminaison de la traduction

La terminaison intervient lorsque le ribosome atteint un codon stop sur l'ARNm.

- Le facteur de libération aRF1 reconnaît le codon d'arrêt.

- Il déclenche la libération de la protéine néoformée ainsi que le relargage de l'ARNm.
- Enfin, les deux sous-unités ribosomiques se désassemblent, permettant un nouveau cycle de traduction.

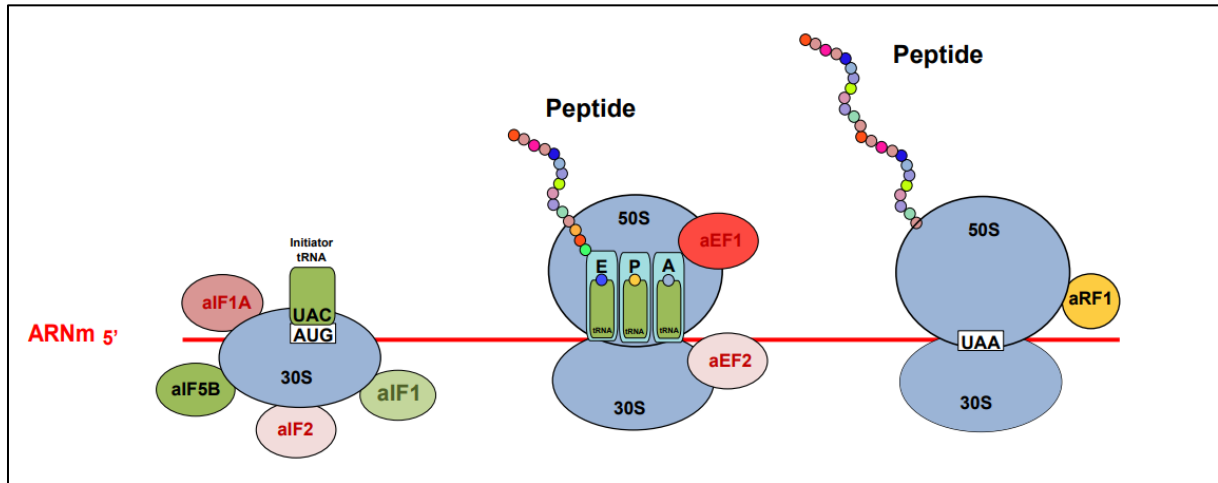


Figure 37: Mécanisme de la traduction chez les archées.

Chez les archées, la traduction débute par l'assemblage du ribosome avec l'ARNm et le Met-ARNt initiateur, suivie de l'élongation des acides aminés codon par codon, puis de la terminaison au niveau du codon stop. Le système est plus proche de celui des eucaryotes que des bactéries. (Porrúa et al., 2016)

1.4 Les Archées d'Asgård

3.1. Introduction

Les archées d'Asgård représentent un superphylum récemment découvert qui a profondément modifié notre compréhension de l'évolution du vivant. Elles tiennent leur nom des divinités nordiques (Asgard, Odin, Thor, Loki, etc.), en raison de la nomenclature adoptée lors de leur identification dans les sédiments marins profonds. Ce groupe occupe une position phylogénétique particulière, à la frontière entre les archées et les eucaryotes.

3.2. Découverte et classification

Les Archées d'Asgård ont été identifiées à partir de métagénomés extraits de milieux extrêmes, notamment des sources hydrothermales et des sédiments anoxiques profonds. Depuis 2015, plusieurs lignées ont été décrites : Lokiarchaeota, Thorarchaeota, Odinarchaeota, Heimdallarchaeota, et plus récemment d'autres groupes apparentés.

3.3. Caractéristiques moléculaires

Ce qui distingue les Archées d'Asgård des autres archées, c'est la présence de gènes homologues à ceux des eucaryotes, appelés gènes eucaryotiques signature (ESPs). On y retrouve des éléments impliqués dans :

- La cytosquelettogenèse (protéines actine-like, tubuline-like),
- La vésicularisation intracellulaire (protéines SNARE-like),
- Le trafic membranaire,
- Des régulateurs complexes de l'expression génique.

Ces caractéristiques suggèrent que les Archées d'Asgård pourraient être les plus proches parentes des eucaryotes, et qu'elles constituent une étape clé dans l'émergence de la cellule eucaryote.

3.4. Implications évolutives

Les Archées d'Asgård soutiennent l'hypothèse dite "endosymbiotique eucaryogène", selon laquelle un ancêtre archéen proche d'Asgård aurait formé une symbiose avec une bactérie alpha-protéobactérienne (précurseur des mitochondries), donnant ainsi naissance à la cellule eucaryote.

Cette découverte remet en question l'arbre du vivant à trois domaines (Bactéries, Archées, Eucaryotes), en faveur d'un arbre à deux domaines : les eucaryotes émergeraient alors au sein des archées.

Exercice 1 – Caractéristiques générales et classification des Archées

Complétez le tableau suivant en cochant la ou les bonnes cases pour chaque caractéristique.

Caractéristique	Archées	Bactéries	Eucaryotes
Présence de peptidoglycane dans la paroi			
Lipides de membrane formés d' éthers			
Présence d'introns dans certains gènes			
Sensibles aux antibiotiques ciblant la synthèse des protéines bactériennes			
Organisation de l'ADN autour d'histones			

Expliquez pourquoi les Archées, bien que procaryotes, sont souvent considérées comme plus proches des Eucaryotes que des Bactéries sur le plan moléculaire.

Exercice 2 – Génétique et évolution des Archées

1. Décrivez deux particularités génétiques propres aux Archées qui les distinguent des Bactéries.
2. Qu'est-ce qui caractérise les Archées dites « d'Asgård » ?
3. Pourquoi les Archées d'Asgård sont-elles importantes dans l'étude de l'origine des Eucaryotes ?
4. Quelle est la contribution des études génomiques modernes dans la compréhension de l'évolution des Archées ?

Corrigés

Exercice 1 – Caractéristiques générales

Caractéristique	Archées	Bactéries	Eucaryotes
Présence de peptidoglycane dans la paroi			✓
Lipides de membrane formés d'éthers	✓		
Présence d'introns dans certains gènes	✓	(rare)	✓
Sensibles aux antibiotiques ciblant la synthèse des protéines bactériennes			✓
Organisation de l'ADN autour d'histones	✓		✓

Réponse à la question :

Les Archées partagent plusieurs caractéristiques moléculaires avec les Eucaryotes, comme la transcription, la traduction, l'initiation de la réplication et l'organisation de l'ADN. Cela suggère une proximité évolutive plus grande entre Archées et Eucaryotes qu'avec les Bactéries, malgré leur structure cellulaire procaryote.

Exercice 2 – Génétique et évolution

1. Particularités génétiques des Archées :

- Présence d'histones associées à l'ADN.
- Machinerie de transcription similaire à celle des Eucaryotes (ARN polymérase complexe, facteurs de transcription analogues).

2. Archées d'Asgård :

- Groupe découvert récemment, contenant des gènes homologues à ceux des eucaryotes (actine, tubuline, ESCRT, etc.).
- Elles possèdent un potentiel fonctionnel eucaryotique.

3. Importance des Archées d'Asgård :

- Elles pourraient représenter les ancêtres directs ou proches des Eucaryotes.
- Elles appuient l'hypothèse que les Eucaryotes ont émergé d'une lignée archaéenne via symbiose avec une bactérie (origine des mitochondries).

4. Contribution des études génomiques :

- Séquençage métagénomique a permis l'identification de nouvelles lignées d'Archées.
- Aide à reconstruire l'arbre phylogénétique du vivant, en mettant en évidence l'importance des Archées dans l'évolution.

Chapitre 4 : Les virus

Partie 4 : Les virus

Objectif :

Étudier la génétique virale, les mécanismes de variabilité, les cycles infectieux, ainsi que les applications biotechnologiques, afin de comprendre le rôle central des virus dans la santé humaine, l'évolution et la recherche biomédicale.

Chapitre 1 : Introduction à la virologie

La virologie est l'étude des virus, entités biologiques particulières caractérisées par leur incapacité à se répliquer de façon autonome. Les virus ne possèdent pas de métabolisme propre et dépendent entièrement des cellules hôtes pour leur réplication. Ils infectent tous les types d'organismes vivants : animaux, plantes, champignons, protistes, et même les bactéries (on parle alors de bactériophages). Leur étude est essentielle en biologie, en médecine, en biotechnologie et en santé publique. (Reddy & Natarajan, 2017).

Chapitre 2 : Virologie moléculaire

1. Structure et composition des virions

Composants fondamentaux

1. Acidenucléique :

Le matériel génétique peut être constitué :

- D'ADN ou d'ARN
- Simple brin (monocaténaire) ou double brin (bicaténaire)
- Linéaire ou circulaire
- Segmenté (ex. virus de la grippe) ou non segmenté

Ce génome code pour les protéines virales nécessaires à la réplication, à la structure et à la régulation de l'infection.

2. Capside :

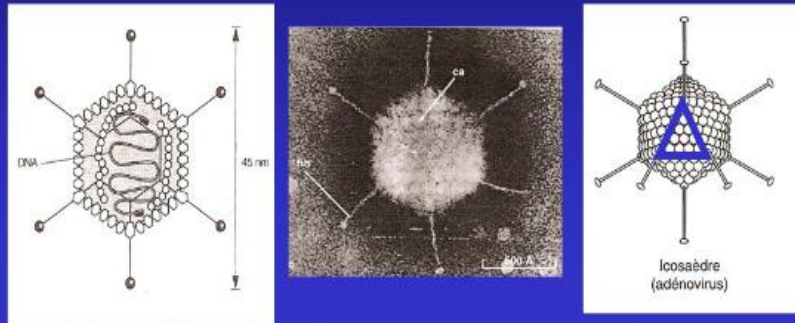
Enveloppe protéique rigide qui entoure l'acide nucléique. Elle est composée de sous-unités protéiques appelées **capsomères**. La capside a plusieurs rôles :

- Protection physique du génome viral
- Reconnaissance et interaction avec les récepteurs cellulaires (dans certains cas)
- Facilitation de l'entrée du génome viral dans la cellule hôte

On distingue trois grands types de symétrie capsidique :

- **Hélicoïdale** (ex. : virus de la mosaïque du tabac)
- **Icosaédrique** (ex. : adénovirus, poliovirus)
- **Complexe** (ex. : bactériophages, poxvirus)

capside constituée de **capsomères** associées pour former une **figure géométrique en forme d'icosaèdre**
 icosaèdre = polyèdre à 20 faces, 12 sommets et 30 arêtes
 elle contient l'**acide nucléique pelotonné ou enroulé sur lui même**

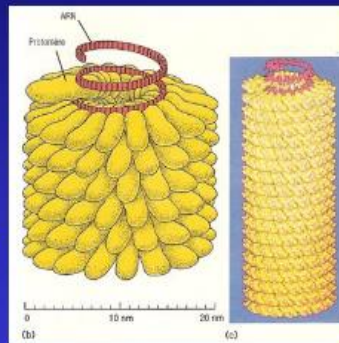


Chaque face est un triangle équilatéral.

- **Le virus de la mosaïque du tabac**

Capside en forme de **bâtonnet cylindrique creux à l'intérieur.**

Elle est formée de **protomères identiques et individualisés**



Elle entoure la **molécule d'AN enroulée en hélice à la manière d'un ressort.**



Figure 38: Capside hélicoïdale et capsidede virus cubique.

La capsidede hélicoïdale est formée par une protéine capsidique répétée qui s'enroule autour de l'acide nucléique, donnant une structure en forme de cylindre. La capsidede cubique (ou icosaédrique) est une structure symétrique composée d'unités protéiques arrangées en forme de polyèdre régulier, assurant une protection stable du génome viral.

3. Nucléocapside :

Ensemble formé par la capsidite et le génome viral. On parle de nucléocapside nue pour les virus non enveloppés, et enveloppée pour les virus entourés d'une enveloppe lipidique.

b. Enveloppe virale (présente uniquement chez certains virus)

Certains virus possèdent une enveloppe lipidique externe, dérivée des membranes cellulaires de l'hôte (membrane plasmique, membrane nucléaire, Golgi...). Cette enveloppe contient :

- Des glycoprotéines virales transmembranaires, qui assurent :
 - L'attachement aux récepteurs cellulaires
 - La fusion des membranes virale et cellulaire
- Un tégument (ou matrice), couche de protéines entre l'enveloppe et la capsidite, chez certains virus enveloppés comme les herpèsvirus.

L'enveloppe rend généralement le virus plus fragile face aux agents physiques et chimiques (chaleur, détergents), mais permet une entrée par fusion plus discrète et efficace.

c. Autres composants

- **Enzymes virales** : certains virions emportent avec eux des enzymes nécessaires à l'amorce du cycle infectieux, comme :
 - **Transcriptase inverse** (chez les rétrovirus)
 - **Polymérase virales** (ex. : ARN polymérase ARN-dépendante chez les virus à ARN négatif)
 - **Intégrases, protéases**, etc.
- **Protéines accessoires ou régulatrices** : présentes chez les virus complexes (comme le VIH), elles modulent la réponse immunitaire de l'hôte ou la régulation de la réplication.

3. Le cycle d'infection d'une cellule par un virus

Le cycle d'infection comporte plusieurs étapes principales :

- **Attachement** : reconnaissance et fixation du virus sur un récepteur spécifique à la surface de la cellule hôte.
- **Pénétration** : entrée du virus ou de son génome dans la cellule, par fusion, endocytose ou injection directe.
- **Décapsidation** : libération de l'acide nucléique viral dans le cytoplasme ou le noyau.
- **Réplication et transcription** : synthèse du génome viral et production d'ARN messagers viraux.
- **Traduction** : production des protéines virales par la machinerie cellulaire.
- **Assemblage** : formation de nouveaux virions par encapsidation du génome viral.
- **Libération** : sortie des virions de la cellule, par lyse ou bourgeonnement.

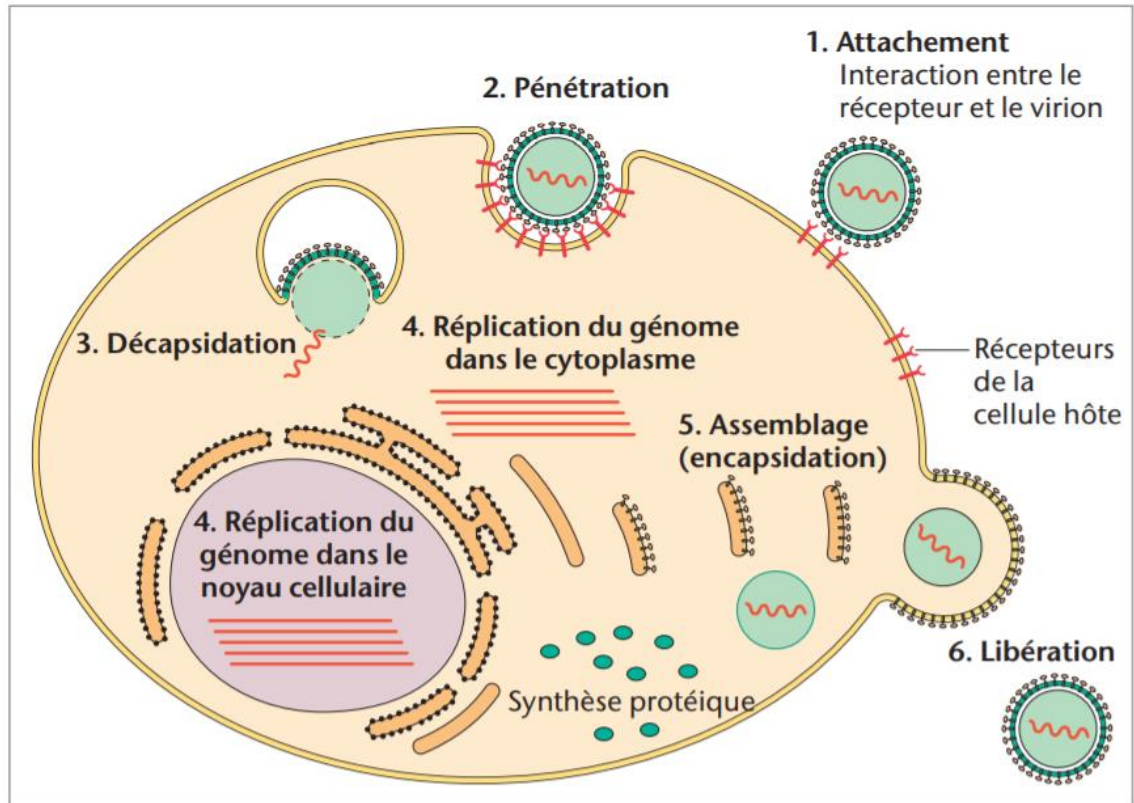


Figure 39: Le cycle d'infection d'une cellule par un virus.

Le virus se fixe d'abord à la surface cellulaire (adsorption), puis pénètre dans la cellule (pénétration). Ensuite, le matériel génétique viral est libéré (décapsidation), suivi par la réplication et la synthèse des protéines virales. Les nouveaux virus sont assemblés (maturation) avant d'être libérés de la cellule hôte par lyse ou bourgeonnement, prêt à infecter de nouvelles cellules.

4. Exemples de cycles viraux représentatifs (virus à ADN, virus à ARN, rétrovirus)

Les virus se distinguent par la nature de leur génome et leur stratégie de réplication. Parmi les exemples les plus étudiés :

- **Virus à ADN** : comme l'herpèsvirus ou le virus de l'hépatite B, qui utilisent la machinerie cellulaire pour transcrire leur ADN en ARNm et produire leurs protéines.
- **Virus à ARN simple brin** : ils sont classés en deux catégories selon la polarité de leur génome :
 - Les **virus à ARN simple brin positif (+)** possèdent un ARN viral qui agit directement comme un ARNm. Une fois libéré dans la cellule hôte, cet ARN est

immédiatement traduit par les ribosomes pour produire les protéines virales.
Exemple : virus de la poliomyélite, coronavirus.

- Les **virus à ARN simple brin négatif (-)** ont un génome à polarité inverse à celle de l'ARNm. Ils doivent d'abord être transcrits en ARN messager par une ARN polymérase ARN-dépendante, une enzyme virale présentée dans la particule virale. Sans cette polymérase, ils ne peuvent amorcer leur cycle infectieux. Exemple : virus de la grippe, virus de la rage.
- **Rétrovirus** : comme le VIH, ces virus possèdent un ARN simple brin positif, mais ne l'utilisent pas directement comme ARNm. Ils possèdent une enzyme appelée transcriptase inverse, qui convertit leur ARN en ADN double brin. Cet ADN s'intègre dans le génome de la cellule hôte, d'où seront transcrits les ARNm et les génomes viraux.

4. Vaccination et agents antiviraux

4.1. Vaccination

La vaccination est une stratégie préventive majeure dans la lutte contre les infections virales. Elle repose sur le principe d'**immunisation active**, consistant à stimuler le système immunitaire par l'introduction d'un antigène viral ou d'une forme atténuée du virus. (Bedford et al., 2015).

Types de vaccins

- **Vaccins vivants atténués** : Contiennent des virus affaiblis qui peuvent se répliquer faiblement sans causer la maladie. Exemples : vaccin contre la rougeole, la rubéole, la varicelle. Avantages : forte immunité durable. Inconvénients : contre-indiqués chez les immunodéprimés.
- **Vaccins inactivés** : Virus tués par chaleur ou produits chimiques. Exemples : vaccin contre la grippe, hépatite A. Ils ne peuvent pas se répliquer, donc nécessitent souvent des rappels.
- **Vaccins sous-unitaires et recombinants** : Utilisent des protéines virales isolées ou produites par génie génétique. Exemples : vaccin contre l'hépatite B, papillomavirus humain (HPV).

- **Vaccins à ARN et à ADN** : Technologie récente utilisant l'ARN messager codant pour une protéine virale. Exemples : vaccins COVID-19 Pfizer-BioNTech, Moderna.

Mécanisme d'action

La vaccination permet au système immunitaire de reconnaître rapidement le virus lors d'une infection future grâce à la production d'**anticorps spécifiques** et à la formation de **cellules mémoire** (lymphocytes B et T). Cette immunité permet une protection durable.

4.2. Agents antiviraux

Contrairement aux antibiotiques, les antiviraux ciblent spécifiquement des étapes du cycle de vie viral. Leur développement est complexe en raison de la dépendance des virus aux cellules hôtes.

Cibles des antiviraux

- **Entrée du virus** : Inhibiteurs qui bloquent la fixation ou la fusion du virus à la cellule (ex : enfuvirtide pour VIH).
- **Réplique du génome viral** : Inhibiteurs de la transcriptase inverse (AZT, lamivudine pour VIH), inhibiteurs de l'ARN polymérase virale (ribavirine).
- **Assemblage et maturation** : Inhibiteurs de protéase (saquinavir, ritonavir) qui empêchent la maturation des protéines virales.
- **Libération des virions** : Inhibiteurs de la neuraminidase (oseltamivir, zanamivir pour influenza).

Limitations

- Résistance virale due à mutations,
- Toxicité potentielle liée à la proximité des fonctions virales et cellulaires,
- Traitements souvent chroniques et non curatifs.

Les antiviraux sont principalement utilisés pour gérer des infections persistantes comme le VIH, l'hépatite B et C, ou pour limiter la gravité de maladies aiguës (grippe).

5. Manipulation et utilisation des virus

5.1. Manipulation en laboratoire

La manipulation des virus nécessite des mesures strictes de sécurité, adaptées au risque biologique qu'ils représentent. La classification en **niveaux de biosécurité (BSL)** va de 1 (risque faible) à 4 (risque élevé).

- **BSL-1 et 2** : Virus peu pathogènes ou manipulés dans des conditions sécurisées (ex : virus vaccinaux, certains virus animaux).
- **BSL-3** : Virus à potentiel létal et transmission aérienne (ex : virus de la tuberculose virale, virus de la grippe H5N1).
- **BSL-4** : Virus hautement pathogènes sans traitement (ex : virus Ebola, virus de la fièvre de Lassa).

Les virus sont cultivés sur des lignées cellulaires spécifiques (cellules en culture), ou dans des modèles animaux, pour étudier leur cycle, pathogénicité et tester des médicaments.

5.2. Utilisation en biotechnologie

Les virus sont des outils puissants en biotechnologie grâce à leur capacité à introduire du matériel génétique dans les cellules.

- **Vecteurs de thérapie génique** : Certains virus (adénovirus, rétrovirus, lentivirus) sont modifiés pour transporter un gène thérapeutique et corriger des maladies génétiques (ex : drépanocytose, déficits immunitaires).
- **Vaccins viraux recombinants** : Expression de protéines antigéniques dans des virus modifiés, stimulants une réponse immunitaire sans causer la maladie (ex : vaccin contre le virus Ebola).
- **Oncolyse virale** : Certains virus sont utilisés pour cibler et détruire sélectivement les cellules cancéreuses, en provoquant leur lyse (ex : virus de l'herpès modifié).

- **Biologie synthétique** : Les virus peuvent servir à fabriquer des nanoparticules ou transporter des molécules thérapeutiques.

6. Agents non-conventionnels et prions

6.1. Agents non-conventionnels

Ces agents infectieux diffèrent des virus classiques par leur structure ou leur mode de répllication :

- **Viroids** : Molécules d'ARN circulaire simples, dépourvues de capsid, responsables de maladies végétales (ex : viroïde de la tubéreuse).
- **Virus satellites** : Petits virus qui dépendent d'un virus helper pour se répliquer, n'ont pas tous les gènes nécessaires (ex : virus de l'hépatite delta).
- **Agents subviraux** : Parfois inclus dans cette catégorie, ce sont des ARN ou protéines qui ne correspondent pas à une entité virale classique.

6.2. Prions

Les prions sont des agents infectieux atypiques composés exclusivement de protéines mal repliées, sans matériel génétique.

- **Structure et mode d'action** : La protéine prion (PrP^{Sc}) induit la conversion des protéines normales (PrP^{C}) en forme pathologique, créant des agrégats toxiques qui détruisent les neurones.
- **Maladies associées** : Encéphalopathies spongiformes transmissibles (maladie de Creutzfeldt-Jakob chez l'homme, tremblante du mouton, maladie de la vache folle).
- **Caractéristiques** : Résistance aux agents chimiques et aux radiations, longue période d'incubation, absence de réponse immunitaire classique.

Chapitre 3 : Variabilité génétique des virus

1. Mécanismes de la variabilité génétique (mutations, recombinaisons, réassortiments)

La variabilité génétique est essentielle à l'évolution des virus. Elle leur permet de s'adapter rapidement, d'échapper au système immunitaire de l'hôte, et parfois de développer une résistance aux traitements antiviraux. Cette variabilité est particulièrement importante chez les virus à ARN, dont la réplication est sujette à de nombreuses erreurs. (Cui, Li, & Shi, 2019).

1. Mutations

Les mutations sont des modifications ponctuelles du génome viral qui apparaissent principalement lors de la réplication. Ces erreurs peuvent être :

- Substitutions (changement d'une base),
- Insertions ou délétions (ajout ou suppression de bases).

Chez les virus à ARN, les ARN polymérases virales ne possèdent généralement pas d'activité de correction (pas d'exonucléase), contrairement aux ADN polymérases cellulaires. Par conséquent, la fréquence des erreurs est élevée, avec un taux de mutation pouvant atteindre jusqu'à 10^{-4} à 10^{-5} par nucléotide incorporé. Cette accumulation rapide de mutations génère une population virale hétérogène appelée *quasi-espèce*.

Les mutations peuvent avoir différents effets :

- Neutres, sans impact sur la fonction virale,
- Défavorables, entraînant une perte de fonction,
- Bénéfiques, conférant un avantage adaptatif (ex : résistance à un antiviral).

2. Recombinaison génétique

La recombinaison est un mécanisme par lequel deux virus co-infectant la même cellule échangent des segments de leur matériel génétique, produisant ainsi un génome hybride.

- Chez les virus à ADN et rétrovirus, la recombinaison repose sur un processus de cassure-soudure : une coupure dans l'ADN viral est suivie de l'échange de fragments, puis de leur religation. Ce mécanisme est souvent médié par les enzymes cellulaires et permet de créer de nouvelles combinaisons génétiques.

- Chez les virus à ARN, un mécanisme spécifique appelé *copy-choice* se produit durant la réplication virale. La polymérase ARN viral peut sauter d'un génome à un autre, copiant alternativement des segments de chacun, sans nécessiter de cassures. Ce type de recombinaison est fréquent chez les coronavirus et les picornavirus, et il favorise une diversité rapide et l'émergence de nouveaux variants.

3. Réassortiment

Le réassortiment concerne uniquement les virus dont le génome est segmenté, c'est-à-dire composé de plusieurs fragments indépendants (segments).

- Lorsqu'une cellule est infectée par deux virus apparentés, les segments d'ARN provenant des deux virus peuvent être mélangés aléatoirement lors de l'assemblage des nouveaux virions.
- Cela génère des virus mosaïques avec des combinaisons inédites de segments génétiques, ce qui peut entraîner des changements majeurs dans les propriétés virales, comme la virulence ou la transmissibilité.

Ce mécanisme est bien connu chez les virus de la grippe (famille des Orthomyxoviridae) et constitue la source principale des pandémies grippales majeures, où de nouveaux sous-types émergent via un *shift antigénique*. On observe également ce phénomène chez les Reoviridae, Arenaviridae et Bunyaviridae.

4. Incorporation de matériel génétique de l'hôte

Certains virus, notamment les rétrovirus, peuvent intégrer dans leur génome des séquences issues directement de la cellule hôte. Ce processus, appelé *transduction*, joue un rôle dans :

- La diversification génétique du virus,
- L'émergence de virus endogènes (virus intégrés dans le génome des organismes hôtes sur des millions d'années),
- Parfois dans la modulation de la pathogénicité virale.

2. Dynamique de l'évolution des populations virales

Les populations virales ne sont pas homogènes, même lorsqu'elles infectent un seul hôte. En réalité, elles sont constituées d'un ensemble complexe de variants génétiques proches mais différents, que l'on appelle une **quasi-espèce virale**.

Qu'est-ce qu'une quasi-espèce virale ?

Une quasi-espèce est une population virale composée de nombreuses variantes génétiques issues de la réplication imparfaite du virus. Cette diversité est particulièrement marquée chez les virus à ARN, qui, en raison de leur taux élevé de mutations, génèrent un pool hétérogène de génomes viraux étroitement liés, mais distincts.

Cette diversité génétique intra-hôte représente une sorte de *réservoir* d'options évolutives que le virus peut exploiter pour s'adapter rapidement aux pressions externes.

Mécanismes influençant la dynamique évolutive

Dans cet environnement génétiquement divers, différents facteurs influencent quelles variantes virales deviennent majoritaires ou disparaissent :

- **Pression de sélection naturelle :**

Le système immunitaire de l'hôte exerce une pression sur la population virale, éliminant les variants sensibles et favorisant ceux qui échappent à la reconnaissance immunitaire. Par exemple, des mutations dans les protéines de surface virales peuvent empêcher la fixation des anticorps neutralisants, conférant un avantage sélectif.

- **Pression des traitements antiviraux :**

L'utilisation de médicaments antiviraux crée un environnement sélectif où seules les variantes possédant des mutations conférant une résistance survivent et se multiplient. C'est ce qui explique l'émergence rapide de souches résistantes lorsque les traitements sont mal gérés.

- **Facteurs environnementaux :**

Des conditions telles que la température, la disponibilité des cellules hôtes, ou la présence d'autres agents pathogènes peuvent aussi influencer la composition des quasi-espèces.

Conséquences de la dynamique de quasi-espèce

- **Adaptabilité élevée :**

Grâce à cette diversité, la population virale peut s'adapter rapidement aux changements, par exemple en développant une résistance au système immunitaire ou aux antiviraux.

- **Émergence de variants :**

Certains variants minoritaires dans la quasi-espèce peuvent, en fonction des pressions de sélection, devenir dominants et provoquer des échecs thérapeutiques ou des poussées épidémiques.

- **Difficulté pour la conception de vaccins :**

Cette diversité constante complique le développement de vaccins efficaces, car les variants évoluent pour échapper à la mémoire immunitaire induite par les vaccins précédents.

3. Facteurs d'évolution des populations virales

Plusieurs facteurs influencent l'évolution virale :

- Le taux de mutation intrinsèque du virus
- La pression de sélection immunitaire ou antivirale
- Les interactions avec les hôtes (co-évolution, barrières d'espèce)
- La densité et les déplacements des populations humaines ou animales

Chapitre 4 : Conséquences biologiques de l'évolution des populations virales

1. Variation antigénique et échappement à la réponse vaccinale

La variation antigénique désigne les modifications des structures moléculaires, en particulier des protéines de surface du virus, qui sont reconnues par le système immunitaire (ex : protéines de l'enveloppe, hémagglutinine chez la grippe). (Menéndez-Arias, 2013).

Mécanismes et conséquences :

- Mutation antigénique (dérive antigénique) : accumulation progressive de petites mutations modifiant les épitopes viraux.
- Réassortiment (shift antigénique) : échange de segments entiers du génome viral, créant des virus totalement nouveaux (ex : virus de la grippe saisonnière vs pandémique).
- Ces changements empêchent les anticorps précédemment formés de reconnaître efficacement le virus, conduisant à une évasion immunitaire.

Exemple : Virus de la grippe

Chaque année, la dérive antigénique explique la nécessité de reformuler le vaccin antigrippal. Parfois, un réassortiment entre virus aviaires et humains crée un nouveau sous-type (shift antigénique), responsable de pandémies majeures (ex : grippe espagnole 1918, grippe H1N1 2009).

Impact sur la vaccination :

- Vaccins doivent être régulièrement mis à jour pour suivre l'évolution des variants.
- L'émergence de variants échappant à la réponse immunitaire peut provoquer des réinfections, comme observé chez certains coronavirus (ex : SARS-CoV-2).

2. Résistance aux traitements antiviraux

L'évolution virale entraîne fréquemment l'apparition de mutants résistants aux médicaments antiviraux. Sous la pression sélective exercée par les traitements, les variantes possédant des mutations conférant une résistance se multiplient rapidement.(Duffy, 2018).

Mécanismes :

- Mutations ponctuelles modifiant le site cible du médicament (ex : mutation dans la protéase virale).
- Acquisition de gènes ou séquences par recombinaison.
- Modifications de la dynamique de réplication pour échapper à l'action du médicament.

Exemple : VIH

La résistance aux inhibiteurs de la transcriptase inverse ou aux inhibiteurs de protéase est un problème majeur. Pour limiter cette résistance, les traitements associent plusieurs antiviraux (thérapie antirétrovirale combinée).

Conséquences :

- Échec thérapeutique et progression de la maladie.
- Nécessité de développement continu de nouveaux antiviraux.
- Importance du suivi clinique et virologique pour détecter précocement l'émergence de résistances.

5. Adaptation à l'hôte, transmissions interespèces et émergence virale

Les virus évoluent également pour s'adapter aux cellules de leur hôte, ce qui peut faciliter la transmission interespèces (zoonoses) et l'émergence de nouvelles maladies chez l'homme.

Mécanismes d'adaptation :

- Mutations dans les protéines d'attachement viral permettant la reconnaissance des récepteurs cellulaires de l'hôte cible.

- Changements dans les protéines régulant la réplication virale, l'échappement immunitaire ou la transmission.
- Réassortiment ou recombinaison créant de nouveaux virus adaptés à un nouvel hôte.

Exemples :

- Coronavirus : SARS-CoV, MERS-CoV et SARS-CoV-2 sont issus de virus animaux (chauves-souris, camélidés) qui ont acquis la capacité d'infecter les humains par des adaptations dans la protéine Spike.
- Virus de la grippe aviaire : adaptation partielle à l'homme, risque de pandémie si mutations supplémentaires facilitent la transmission interhumaine.

Conséquences :

- Apparition de nouvelles maladies émergentes ou ré-émergentes.
- Difficultés de contrôle car les populations humaines n'ont pas d'immunité préexistante.
- Importance d'une surveillance épidémiologique renforcée des réservoirs animaux.

6. Variations de tropisme viral et pathogénèse

Le tropisme viral correspond à la spécificité d'un virus pour certains types cellulaires, tissus ou organes. L'évolution génétique peut modifier ce tropisme, influençant la sévérité de la maladie (pathogénèse).

Modifications du tropisme :

- Mutations affectant la reconnaissance des récepteurs cellulaires, pouvant permettre au virus d'infecter de nouveaux types cellulaires.
- Changements influençant la capacité du virus à échapper à la réponse immunitaire locale.
- Adaptations modifiant la capacité à se répliquer dans différents environnements tissulaires.

Exemples :

- Virus de la dengue : plusieurs sérotypes avec des différences de tropisme et de virulence, expliquant la variabilité clinique.
- Virus de la grippe : certains variants ciblent préférentiellement les voies respiratoires supérieures, facilitant la transmission, tandis que d'autres infectent les voies respiratoires profondes, augmentant la gravité.
- Virus Zika : changement dans le tropisme viral associé à la neurovirulence et aux complications neurologiques.

Impacts :

- Modulation de la gravité des infections et de la symptomatologie clinique.
- Influence sur la transmission (un virus très virulent peut se transmettre moins efficacement si l'hôte meurt rapidement).
- Conséquences sur la prise en charge médicale et le développement de traitements ciblés.

Chapitre 5 : Modélisation moléculaire des virus et relations structure-fonctions des protéines virales

1. Structure des virus et des assemblages moléculaires viraux

Les progrès des techniques de visualisation moléculaire, telles que la cryo-microscopie électronique, la cristallographie aux rayons X ou encore la RMN, ont permis de révéler l'architecture tridimensionnelle des virions avec une résolution atomique. Ces données sont fondamentales pour comprendre le rôle de chaque composant viral, notamment dans l'attachement, l'entrée cellulaire, l'assemblage ou la libération des particules virales. Les capsides, les enveloppes virales et les complexes protéine-acide nucléique présentent des organisations hautement structurées et optimisées pour leur fonction.

2. Évolution dynamique et relations fonctionnelles des structures des protéines virales

Les protéines virales évoluent sous double contrainte : assurer une fonction biologique essentielle (ex. : attachement, fusion, réplication) tout en échappant à la pression immunitaire ou antivirale. Les glycoprotéines d'enveloppe, comme l'hémagglutinine des virus grippaux ou la protéine Spike des coronavirus, subissent des modifications structurales leur permettant d'échapper aux anticorps neutralisants. Les protéases virales, en clivant des polyprotéines virales, sont essentielles à la maturation du virus ; leur site actif est une cible thérapeutique privilégiée. Quant aux polymérase virales, leur fidélité, leur tolérance aux mutations et leur capacité à interagir avec l'ARN ou l'ADN viral en font des acteurs clés de la réplication et de l'évolution.

3. Applications à la conception d'antiviraux et de vaccins viraux

La modélisation moléculaire des protéines virales permet de prédire les interactions ligand-protéine et d'identifier les poches de liaison ou sites actifs exploitables pour le criblage de nouveaux inhibiteurs. Elle est également utilisée pour concevoir des vaccins de nouvelle génération, notamment à base de protéines recombinantes stabilisées dans des conformations immunogéniques spécifiques (par exemple, la conformation pré-fusionnelle de la protéine

Spike dans les vaccins contre la COVID-19). Les techniques *in silico* accélèrent la découverte de molécules candidates en simulant des interactions à l'échelle atomique et en sélectionnant les structures les plus prometteuses avant validation expérimentale. Cette approche structure-fonction est aujourd'hui au cœur de la virologie appliquée.

Exercices d'applications :

Exercice 1 : QCM – Structure et cycle viral

Cochez la ou les bonnes réponses.

1. Les virus à ARN :

- Peuvent être à ARN simple brin ou double brin
- Utilisent toujours la transcriptase inverse
- Sont sensibles aux antibiotiques
- Ont souvent un taux de mutation élevé

2. Lors d'une infection virale productive :

- Le virus pénètre dans la cellule hôte
- L'ADN viral s'intègre toujours dans le génome de la cellule
- Le virion est assemblé puis libéré
- La cellule hôte ne meurt jamais

3. Les rétrovirus :

- Ont un génome à ADN
- Utilisent une ARN polymérase virale pour la transcription
- Utilisent une transcriptase inverse
- Peuvent provoquer des cancers

Exercice 2 :

Voici un schéma simplifié du cycle d'un rétrovirus :

1. Fixation → 2. Fusion → 3. Transcription inverse → 4. Intégration → 5. Transcription → 6. Traduction → 7. Assemblage → 8. Bourgeonnement

Questions :

- a) Citez **deux étapes ciblées** par des traitements antiviraux, en précisant un médicament connu pour chaque.
- b) Expliquez pourquoi les rétrovirus sont particulièrement difficiles à éradiquer du corps humain.
- c) Donnez un exemple de **mécanisme de résistance** virale à un antiviral.

Exercice 3 : Raisonnement scientifique – Évolution virale

Un virus de la grippe saisonnière évolue rapidement d'une année à l'autre.

Questions :

- a) Nommez et décrivez **deux mécanismes** qui expliquent cette variabilité.
- b) Pourquoi faut-il reformuler le vaccin contre la grippe chaque année ?
- c) En quoi la recombinaison et le réassortiment peuvent-ils conduire à des pandémies ?
- d) Citez un exemple de virus émergent lié à une transmission interespèce.

Corrigés

Exercice 1 : QCM

1. **Virus à ARN** : 1, 4
2. **Infection productive** : 1, 3
3. **Rétrovirus** : 3, 4

Exercice 2 : Analyse

a)

- **Étape 3 (transcription inverse)** → ciblée par la **zidovudine (AZT)**
- **Étape 4 (intégration)** → ciblée par des **inhibiteurs d'intégrase** (ex. **raltegravir**)

b)

Les rétrovirus intègrent leur génome dans celui de la cellule hôte, ce qui leur permet de **persister à vie** dans les cellules, même en l'absence de virions détectables. Cela rend leur éradication extrêmement difficile.

c)

Un virus peut développer une **mutation dans la transcriptase inverse** qui **diminue l'affinité du médicament**, rendant le traitement inefficace.

Exercice 3 : Raisonnement scientifique

a)

- **Mutation** : les virus à ARN accumulent des mutations du fait de l'absence de relecture.
- **Réassortiment** : échange de segments génomiques entre deux virus co-infectant la même cellule (cas des virus à génome segmenté comme le virus de la grippe).

b)

La variabilité antigénique (mutations dans les gènes codant les hémagglutinines/neuraminidases) rend les souches virales différentes chaque année → il faut **adapter la formulation vaccinale**.

c)

Le **réassortiment** peut créer un virus hybride totalement nouveau pour le système immunitaire humain → pouvant conduire à une **pandémie** (ex : grippe H1N1 de 2009).

d)

Exemple : **Virus SARS-CoV-2** (Covid-19) transmis initialement à l'homme depuis une espèce animale intermédiaire (pangolin ou chauve-souris).

Conclusion générale

La génétique microbienne est un domaine central en biologie, qui permet de comprendre comment les micro-organismes organisent, transmettent, modifient et expriment leur matériel génétique. L'étude conjointe des bactéries, des levures, des archées et des virus offre une vision large et intégrée des mécanismes moléculaires à l'origine de la variabilité génétique et de l'adaptation des êtres vivants les plus simples.

Les bactéries, par la richesse de leurs systèmes de régulation et la souplesse de leurs transferts horizontaux, illustrent de manière remarquable l'efficacité évolutive des procaryotes. Les levures, en tant qu'eucaryotes unicellulaires modèles, permettent de transposer les grands principes de la génétique classique et moléculaire dans un contexte expérimental accessible, tout en fournissant des informations précieuses sur la régulation des gènes, les mutations, la méiose ou encore la génétique mitochondriale. Les archées, longtemps négligées, occupent aujourd'hui une place clé dans notre compréhension de l'évolution du vivant : elles partagent des caractéristiques moléculaires avec les eucaryotes tout en conservant une structure cellulaire procaryote, ce qui en fait un groupe charnière fascinant. Enfin, les virus, bien qu'acellulaires, offrent un modèle unique pour étudier les interactions hôte-agent infectieux, l'évolution rapide des génomes, ainsi que les mécanismes de manipulation et de détournement des fonctions cellulaires.

Ce polycopié vise ainsi à initier les étudiants à une réflexion scientifique rigoureuse sur les processus fondamentaux qui gouvernent la vie à l'échelle moléculaire chez les micro-organismes. Il prépare également à mieux comprendre les enjeux actuels liés à la génétique des agents infectieux, qu'il s'agisse de la résistance bactérienne aux antibiotiques, des émergences virales ou des applications biotechnologiques fondées sur la manipulation du vivant.

En développant à la fois des compétences théoriques et une vision intégrée des différents systèmes microbiens, ce support de cours constitue une base solide pour aborder des disciplines connexes telles que la microbiologie appliquée, la biologie moléculaire, la biotechnologie ou encore la génomique fonctionnelle.

Références bibliographiques

Livres

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2019). *Molecular Biology of the Cell* (6th ed.). Garland Science. ISBN 9780815344322.

Bedford, T., Riley, S., Barr, I.G., Broor, S., Chadha, M., Cox, N.J., ... & Russell, C.A. (2015). *Global circulation patterns of seasonal influenza viruses vary with antigenic drift*. *Nature*, 523(7559), 217–220. <https://doi.org/10.1038/nature14460>

Bourlon, P.-M. (2023). *Spécialité SVT - Première : Résumés de cours, exercices et contrôles corrigés*. Ellipses. ISBN 978-2-340-08086-7.

Busby, S. J. W., & Luscombe, N. J. (2022). *The Bacterial Cell: Molecular Biology and Physiology*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. ISBN 9781621823861.

Craig, N. L., Green, R., Greider, C., & Storz, G. (2022). *Molecular Biology: Principles of Genome Function* (3rd ed.). Oxford University Press. ISBN 9780198862294.

Cui, J., Li, F., & Shi, Z.-L. (2019). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, 17(3), 181–192. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>

Divan, A. (2022). *Molecular Biology: A Very Short Introduction*. Oxford University Press. ISBN 9780198833874.

Duffy, S. (2018). Why are RNA virus mutation rates so damn high? *PLoS Biology*, 16(8), e3000003. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000003>

Kim, B. H., & Gadd, G. M. (2022). *Bacterial Physiology and Metabolism*. Cambridge University Press. ISBN 9781107171732.

Klein, J. R. (2021). *Fundamentals of Molecular Biology*. Springer. ISBN 9783030700845.

Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., Bretscher, A., Ploegh, H., et al. (2020). *Molecular Cell Biology* (8th ed.). W.H. Freeman. ISBN 9781319103594.

Menéndez-Arias, L. (2013). Mechanisms of resistance to nucleoside analogue inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase. *Virus Research*, 176(1-2), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.06.001>

Pinto, C., Melo-Miranda, R., Gordo, I., & Sousa, A. (2021). The selective advantage of the lac operon for *Escherichia coli* is conditional on diet and microbiota composition. *Frontiers in Microbiology*, 12, 709259. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.709259>

Ralser, M. (Ed.) (2019). *Yeast Systems Biology: Methods and Protocols*. Humana Press. ISBN 9781493990537.

Raven, P. H., Johnson, G. B., Mason, K. A., Losos, J. B., & Duncan, T. (2020). *Biologie* (C. Van Hove & P. L. Masson, Trad.). De Boeck supérieur. ISBN 9782807327023.

Sibirny, A. A. (Ed.) (2017). *Saccharomyces: Biotechnology and Biotechnological Applications*. Springer. ISBN 9783319588299.

Snyder, L., & Champness, W. (2022). *Molecular Genetics of Bacteria* (5th ed.). Wiley. ISBN 9781555819750.

Willey, J. M., Sherwood, L., & Woolverton, C. J. (2018). *Microbiologie de Prescott* (J. Coyette, Trad.). De Boeck Supérieur. ISBN 9782807308022.

Willey, J. M., Sherwood, L., & Woolverton, C. J. (2019). *Prescott's Microbiology* (10th ed.). McGraw-Hill Education. ISBN 9781259864347.

Watson, J. D., Baker, T. A., Bell, S. P., Gann, A., Levine, M., & Losick, R. (2022). *Molecular Biology of the Gene* (8th ed.). Pearson. ISBN 9780134077119.

Articles et revues scientifiques

Arnold, B. J., Huang, I.-T., & Hanage, W. P. (2022). Horizontal genetransfer and adaptive evolution in bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 20*, 206–218. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00658-x>

Bedford, T., Riley, S., Barr, I. G., Broor, S., Chadha, M., Cox, N. J., ... & Russell, C. A. (2015). Global circulation patterns of seasonal influenza viruses vary with antigenic drift. *Nature*, 523*(7559), 217–220. <https://doi.org/10.1038/nature14460>

Benelli, D., & Londei, P. (2011). Translation initiation in Archaea: conserved and domain-specific features. *Biochemical Society Transactions*, 39*(1), 1–5. <https://doi.org/10.1042/BST0390001>

Brito, I. L. (2021). Examining horizontal genetransfer in microbial communities. *Nature Reviews Microbiology*, 19*, 442–453. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00518-w>

Casjens, S. (1998). The diverse and dynamic structure of bacterial genomes. *Annual Review of Genetics*, 32*, 339–377. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.32.1.339>

Casjens, S. A. (1998). The genomic structure of the bacteriophage P1 and related plasmids. *Microbiological Reviews*, 62*(4), 658–672. <https://doi.org/10.1128/mr.62.4.658-672.1998>

Chang, Y.-W., Rettberg, L. A., Treuner-Lange, A., Iwasa, J., Søgaard-Andersen, L., & Jensen, G. J. (2016). Architecture of the type IVa pilus machine. *Science*, 351*(6278), aad2001.

Cui, J., Li, F., & Shi, Z.-L. (2019). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, 17*(3), 181–192. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>

Dame, R. T. (2005). Structure and function of bacterial chromatin. *FEMS Microbiology Reviews*, 29*(5), 583–598. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2005.03.003>

- Dillon, S. C., & Dorman, C. J. (2010). Bacterial nucleoid-associated proteins, DNA architecture and gene expression. *Nature Reviews Microbiology*, 8*(3), 185–195. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2298>
- Duffy, S. (2018). Why are RNA virus mutation rates so damn high? *PLoS Biology*, 16*(8), e3000003. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000003>
- Espeli, O., Mercier, R., & Boccard, F. (2008). The bacterial chromosome and its dynamic organization. *Nature Reviews Microbiology*, 6*(6), 558–569. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1939>
- Feijoo-Siota, L., & Dias, J. M. (2017). Comparative genomics of *Streptomyces* species: Insight into their biology and biotechnological potential. *Applied and Environmental Microbiology*, 83*(10), e00234–e00217. <https://doi.org/10.1128/aem.00234-17>
- Fisher, J. K., et al. (2013). Microscopic analysis of bacterial chromosome organization. *Science*, 340*(6129), 819–822. <https://doi.org/10.1126/science.1236983>
- Good, B. H., Bhatt, A. S., & McDonald, M. J. (2025). Unraveling the tempo and mode of horizontal gene transfer in bacteria. *Trends in Microbiology*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2025.03.009>
- Hinneken, P., Fayad, N., Gillis, A., & Mahillon, J. (2022). Conjugation across *Bacillus cereus* and kin: A review. *Frontiers in Microbiology*, 13*, 1034440. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1034440>
- Hirata, A., Klein, B. J., & Murakami, K. S. (2008). The X-ray crystal structure of RNA polymerase from Archaea. *Molecular Microbiology*, 68*(1), 109–125. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06430.x>
- Kellenberger, E., Ryter, A., & Séchaud, M. (1958). The nucleoid of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 75*(3), 297–306. <https://doi.org/10.1128/JB.75.3.297-306.1958>
- Khan, S. A. (2005). Plasmid rolling-circle replication: Highlights of two decades of research. *Plasmid*, 53*(2), 126–136.
- Korkhin, Y., Unligil, U. M., Littlefield, O., Nelson, P. J., Stuart, D. I., Sigler, P. B., Bell, S. D., & Abrescia, N. G. A. (2009). Evolution of complex RNA polymerases: The complete archaeal RNA polymerase structure. *PLOS Biology*, 7*(5), e1000102. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000102>
- Lestini, R., Delpech, F., & Myllykallio, H. (2015). Archaeal DNA replication: A complex yet elegant process. *Frontiers in Microbiology*, 6*, 1281. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01281>
- Liman, R. S., McTeer, R. L., & Bell, S. D. (2025). Archaeal DNA replication initiation: Bridging LUCA's legacy and modern mechanisms. *Frontiers in Microbiology*, 6*, 1281. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01281>

- Ling, F., Bradshaw, E., & Yoshida, M. (2019). Prevention of mitochondrial genomic instability in yeast by the mitochondrial recombinase Mhr1. *Scientific Reports*, 9*, 5433. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41699-9>
- Lioy, V. S., Junier, I., & Boccard, F. (2021). Bacterial chromosomal architecture and organization in vivo. *Nature Reviews Microbiology*, 19*(4), 202–213. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00486-0>
- Menéndez-Arias, L. (2013). Mechanisms of resistance to nucleoside analogue inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase. *Virus Research*, 176*(1-2), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.06.001>
- Michel, B., & Sandler, S. J. (2017). Replication restart in bacteria. *Journal of Bacteriology*, 199*(14), e00102-17. <https://doi.org/10.1128/jb.00102-17>
- Pinto, C., Melo-Miranda, R., Gordo, I., & Sousa, A. (2021). The selective advantage of the lac operon for *Escherichia coli* is conditional on diet and microbiota composition. *Frontiers in Microbiology*, 12*, 709259. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.709259>
- Reddy, V. S., & Natarajan, P. (2017). Virus structure and assembly. *Current Opinion in Virology*, 24*, 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.10.003>
- Seel, C., et al. (2023). Mitochondrial genome evolution in yeasts: An all-encompassing view. *FEMS Yeast Research*, 15*(4), fov023. <https://doi.org/10.1093/femsyr/fov023>